

Carotinoide
als Wirkstoffe der Fortpflanzungsphysiologie
von *Cyclamen persicum* Mill.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
Philosophischen Fakultät II der Universität Zürich

von

FRITZ HANS SCHWARZENBACH
aus RÜSCHLIKON

Begutachtet von
Prof. Dr. H. WANNER

Zürich 1953

Buchdruckerei Gebr. Fretz AG, Zürich

Sonderabdruck aus der
Vierteljahrsschrift der Naturforschenden Gesellschaft in Zürich,
XCVIII (1953). Beiheft 1

Redaktor: Prof. Dr. Hans Steiner, Zoologisches Institut der Universität Zürich

Ausgegeben am 31. März 1953

Carotinoide
als Wirkstoffe der Fortpflanzungsphysiologie
von *Cyclamen persicum* Mill.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
Philosophischen Fakultät II der Universität Zürich

von

FRITZ HANS SCHWARZENBACH
aus RÜSCHLIKON

Begutachtet von
Prof. Dr. H. WANNER

Zürich 1953

Buchdruckerei Gebr. Fretz AG, Zürich



Carotinoide als Wirkstoffe der Fortpflanzungsphysiologie von *Cyclamen persicum* Mill.

Von

FRITZ HANS SCHWARZENBACH

Inhaltsverzeichnis

1 Problemstellung	3
2 Methodik	5
21 Versuchstechnik	5
211 Experimentelle Schwierigkeiten bei der Prüfung von Carotinoiden	5
212 Die Hauptverfahren zur Prüfung wasserlöslicher und lipoider Substanzen	
212.1 Die Kultur im hangenden Tropfen	6
212.2 Das Grenzflächenverfahren	6
212.3 Das Suspensionsverfahren	7
212.4 Das Zentrifugenverfahren	8
213 Ergänzungen zur Versuchstechnik	9
213.1 Das pflanzliche Versuchsmaterial	9
213.2 Versuchsbedingungen	9
213.3 Aufbewahrung des Pollens	9
213.4 Herstellung von Verdünnungsreihen	9
213.5 Reinigung der verwendeten Glaswaren und Instrumente	10
22 Anlage der Versuche	10
221 Versuchsschema zur Prüfung einer bestimmten Substanz in verschiedenen Konzentrationen	10
222 Versuchsschema zur Prüfung zweier beliebiger Substanzen in ihrem Zusammenwirken in der Pollenkeimung	11
23 Statistische Bearbeitung der Versuche	11
231 Standardmethode zur Bestimmung der Keimrate	11
231.1 Bestimmung der Keimrate in der einzelnen feuchten Kammer	11
231.2 Bestimmung der Keimrate in jeder Versuchsserie	13
231.3 Vergleich von Serien	13
232 Standardmethode zur Bestimmung der mittleren Schlauchlänge	14
232.1 Bestimmung der mittleren Schlauchlänge in jeder einzelnen feuchten Kammer	14
232.2 Vergleich der mittleren Schlauchlänge in verschiedenen Serien	15
232.3 Methode zur Prüfung der Korrelation zwischen Keimrate und Pollenschlauchwachstum	15
3 Beweisführung	15
31 Die Wirkung von Carotinoiden bekannter Konstitution auf die Keimung von Zyklamenpollen	15
311 Zusammenstellung der Versuchsergebnisse	15
312 Gruppierung der geprüften Carotinoide nach ihrer Wirkung und dem Schwellenwert der wirksamen Konzentrationen	16

1 Problemstellung

Carotinoide bilden eine im Pflanzenreich weit verbreitete Gruppe von Farbstoffen. Es ist bekannt, dass alle grünen Pflanzenteile Carotinoide enthalten; ausserdem hat man nachgewiesen, dass in Blüten Pigmente dieser Gruppe in grosser Mannigfaltigkeit auftreten. (P. KARRER und E. JUCKER 1948, S. 72—89.)

Über die Funktion dieser Farbstoffe im pflanzlichen Organismus sind schon zahlreiche Hypothesen geäussert worden; doch liegt bis heute erst wenig experimentell gesichertes Beobachtungsmaterial vor. Die meisten Annahmen gehen von bestimmten chemischen oder physikalischen Eigenschaften dieser Substanzen aus und versuchen, unter Berücksichtigung des Vorkommens, Carotinoide als Biokatalysatoren bestimmten physiologischen Vorgängen zuzuordnen. Von den vielen Vermutungen, die über die Rolle der Carotinoide in der Pflanze geäussert worden sind, seien hier nur diejenigen zitiert, die mit dieser Arbeit in engerem Zusammenhang stehen; Hinweise auf weitere Arbeiten finden sich bei P. KARRER und E. JUCKER 1948, S. 17.

Einige Autoren vermuten, dass Carotinoide auf die Zellatmung einwirken, indem angenommen wird, dass diese Pflanzenfarbstoffe oder chemisch aktive Spaltprodukte derselben als Wirkgruppen in Atmungsfermenten auftreten. Für diese Hypothese spricht einmal die Beobachtung von A. FODOR und R. SCHOENFELD 1931, welche nachgewiesen haben, dass kolloidale Carotinslösungen als Wasserstoffakzeptoren wirksam sind. Gestützt wird ferner diese Vermutung durch die Feststellung von P. KARRER und Mitarbeitern 1945, dass Carotinoidepoxyde in Pflanzen weit verbreitet sind; da diese Stoffe den epoxydisch gebundenen Sauerstoff leicht abspalten, ist eine Mitwirkung dieser Substanzen in Atmungsvorgängen nicht ausgeschlossen. Gegen die Atmungshypothese sprechen allerdings die Experimente von R. WILLSTÄTTER und A. STOLL 1918, welche keinen Einfluss von Carotinoiden auf den Atmungsvorgang feststellen konnten.

O. WARBURG und E. NEGELEIN 1923 vermuteten, dass Carotin und Xanthophyll photochemisch bei der Assimilation mitwirken.

F. KOEGL und G. J. SCHURINGA weisen nach, dass β -Carotin als Sensibilisator für die photochemische Inaktivierung von Auxin-a-Lacton wirkt.

Untersuchungen von R. KUHN, F. MOEWUS und Mitarbeitern 1944, befassen sich mit der Wirkung von Carotinoiden auf Sexualvorgänge bei Algen aus der Gattung *Chlamydomonas*. Diese Autoren zeigen, dass bei diesen Einzellern bestimmten Carotinoiden der Charakter von Sexualstoffen zukommt.

Als Basis für die vorliegende Arbeit dient die Vermutung, dass es sich bei den Carotinoiden in Blüten um Wirkstoffe handelt, die bestimmte fortpflanzungsphysiologische Vorgänge steuern.

Grundlage für diese Arbeitshypothese bilden zahlreiche Beobachtungen von fortpflanzungsphysiologischen Prozessen bei Phanerogamen, die sich auf den Einfluss unbekannter Wirkstoffe aus der Blüte zurückführen lassen. Schon

E. STRASBURGER 1878, L. JOST 1905 und 1907, u. a. haben nachgewiesen, dass bei Pollenkeimungsversuchen in der feuchten Kammer die Zugabe von Stempelgewebe (Narbenteile, Griffelstücke oder Samenanlagen) häufig zu einer Erhöhung der Keimrate und zu einer Beschleunigung des Pollenschlauchwachstums führt. Schon lange bekannt ist ferner die chemotropische Wirkung, die vom Stempelgewebe auf die wachsenden Pollenschläuche ausgeübt wird (vgl. E. STRASBURGER 1878). Aus zahlreichen Untersuchungen über Inkompatibilität ergibt sich, dass häufig nach illegitimen Bestäubungen die Pollenkeimung auf der Narbe oder das Pollenschlauchwachstum im Griffel gehemmt wird. Zumeist werden diese Hemmungen auf stoffliche Ausscheidungen des Stempelgewebes zurückgeführt, die unter dem Einfluss von Sterilitätsgenen gebildet werden. Von den zahlreichen Arbeiten auf diesem Gebiet seien nur einige der neueren Publikationen erwähnt: S. H. EMERSON 1940, D. LEWIS 1944 und J. STRAUB 1946, 1947 und 1948.

Durch Zufall hat es sich bei eigenen Arbeiten herausgestellt, dass befruchtete Samenanlagen von *Cyclamen persicum* und *Primula obconica* Stoffe produzieren, welche die Keimung von Pollenkörnern vollständig unterbinden.

Über die chemische Natur dieser Stoffe weiss man noch sehr wenig. Die Isolierung dieser Substanzen und ihre Identifizierung mit chemischen oder biologischen Methoden steckt noch in den Anfängen. Einen ersten Schritt in dieser Richtung hat F. MOEWUS 1950 getan; an Hand seiner Untersuchungen über die Physiologie der Inkompatibilität bei *Forsythia* weist er nach, dass die Keimung illegitimen Pollens durch Flavonolglykoside blockiert wird.

Die Feststellung von MOEWUS legt nahe, auch andere Gruppen von pflanzlichen Farbstoffen auf ihre Wirkung bei Sexualvorgängen höherer Pflanzen zu prüfen. Eine Reihe von Indizien sprechen nun dafür, dass ein Teil der unbekannten Wirkstoffe mit Carotinoiden aus der Blüte identisch sind.

Ein Hinweis ergibt sich aus Untersuchungen über das Vorkommen pflanzlicher Farbstoffe in Blüten; neben Pflanzen, welche Flavonfarbstoffe als Blütenpigmente enthalten, treten solche auf, die sich durch ihren Gehalt an Carotinoiden auszeichnen. Häufig kommen dabei in der gleichen Blüte mehrere dieser Farbstoffe nebeneinander vor; ihre Kombination kann von Pflanzenart zu Pflanzenart wechseln; die Konzentrationen dieser Pigmente sind klein. Diese Verbreitungseigentümlichkeiten decken sich mit der Vorstellung, die wir uns über das Vorkommen jener Wirkstoffe zu machen haben, welche Inkompatibilitätsvorgänge steuern. Sterilitätsuntersuchungen haben ergeben, dass bei jeder Spezies Art und Ausmass ihrer Unverträglichkeit gegenüber fremdem Pollen besonders festgelegt sind. Diese Spezifität lässt sich leicht erklären, wenn man annimmt, dass die Unverträglichkeit gegenüber fremdem Blütenstaub durch koordiniertes Zusammenwirken mehrerer Stoffe bestimmt wird, die sowohl qualitativ wie quantitativ frei kombiniert in der Pflanze auftreten können.

Für die Beteiligung fettlöslicher Wirkstoffe, wie sie z. B. die Carotinoide darstellen, bei der Pollenkeimung spricht eine Beobachtung von H. HUNZIKER (unveröffentlicht) an Arten der Gattung *Armeria*. Pollenkörner dieser Pflan-

zen vermögen in wässriger Nährlösung nur dann auszukeimen, wenn sie in direktem Kontakt mit der Narbe stehen. Diese Erscheinung lässt sich am einfachsten durch die Annahme interpretieren, dass die Pollenkeimung durch einen lipophilen Wirkstoff aus dem Narbengewebe ausgelöst wird; ist das Blütenstaubkorn durch eine Wasserschicht von der Narbe isoliert, so ist eine Diffusion dieses fettlöslichen Stoffes ausgeschlossen.

Aus diesen Überlegungen heraus ergibt sich die Problemstellung für die vorliegende Untersuchung:

Sind Carotinoide Wirkstoffe fortpflanzungsphysiologischer Prozesse bei Phanerogamen?

Ziel dieser Arbeit ist es, ausgehend von der Wirkung von Carotinoiden auf Pollenkeimung und Pollenschlauchwachstum, zu versuchen, einen biologischen Wahrscheinlichkeitsbeweis dafür zu erbringen, dass bestimmte Sexualvorgänge bei Blütenpflanzen auf den Einfluss von Carotinoiden zurückgeführt werden können.

2 Methodik

21 Versuchstechnik

211 Experimentelle Schwierigkeiten bei der Prüfung von Carotinoiden

Die experimentelle Schwierigkeit bei der Prüfung von Carotinoiden auf ihre Wirkung in der Pollenkeimung liegt darin, dass diese Pigmente nur fettlöslich sind, während Blütenstaub zur Keimung Wasser benötigt. Um daher Carotinoide untersuchen zu können, muss eine Methode gefunden werden, die es erlaubt, gleichzeitig ein lipoides Lösungsmittel und Wasser an den Pollen heranzubringen. Zur Überwindung dieser Schwierigkeit wurden drei Verfahren entwickelt; im ersten, dem Grenzflächenverfahren, wird der Blütenstaub derart in die Grenzfläche zwischen einer homogenen wässrigen und einer homogenen lipoiden Phase gebracht, dass die eine Seite des Pollenkorns mit Wasser, die andere mit dem Fettlösungsmittel in Kontakt steht. Bei der zweiten Methode, dem Suspensionsverfahren, arbeitet man mit einer Suspension eines festen Fettlösungsmittels in Wasser, bei der die mittlere Teilchengrösse so weit herabgesetzt ist, dass jedes Pollenkorn mit grosser Wahrscheinlichkeit mit mindestens je einem Teilchen der wässrigen und der lipoiden Phase in Berührung kommt. Eine Verbesserung der Grenzflächenmethode stellt das Zentrifugenverfahren dar.

212 Die Hauptverfahren zur Prüfung wasserlöslicher und lipoider Substanzen

212.1 Die Kultur im hangenden Tropfen

Die Kultur im hangenden Tropfen bildet das klassische Verfahren für Pollenkeimungsversuche *in vitro*; es erlaubt, den Blütenstaub in wässrigen Lösungen zu züchten und beliebige wasserlösliche Substanzen auf ihren Einfluss in der Pollenkeimung zu prüfen. Nach dieser Methode sind die Vorversuche zur Ermittlung der günstigsten Temperaturbedingungen für Pollenkeimungsexperimente nach den anderen Verfahren angestellt worden.

Versuchsvorschrift. Man bringt einen Tropfen destillierten Wassers oder einer wässrigen Nährlösung auf ein Deckglas (32×24 mm), impft mit Pollen und setzt das Deckglas auf eine mit Vaseline oder Paraffinöl abgedichtete feuchte Kammer auf. (Die für alle Versuche verwendeten feuchten Kammern bestehen aus einem Objektträger 76×26 mm mit einem aufgeklebten Glasring von 10 mm Höhe und 15 mm lichter Weite.) Um die Luftfeuchtigkeit konstant zu halten, bringt man 0,4 ccm H₂O dest. auf den Grund der feuchten Kammer. Die Kontrolle der Keimung, die Auszählung der gekeimten Pollenkörner und die Ausmessung der Pollenschläuche kann bei diesem Verfahren ohne besondere Präpariermethode direkt unter dem Mikroskop erfolgen.

212.2 Das Grenzflächenverfahren

Das Grenzflächenverfahren stellt eine Modifikation der Kultur im hangenden Tropfen dar. Die Abänderung besteht darin, dass man den Pollen anstatt in einer wässrigen Nährlösung auf einem festen, physiologisch indifferenten Fettlösungsmittel (z. B. Paraffin) ansetzt und die zur Keimung notwendige Feuchtigkeit in Form von wasserdampfgesättigter Luft an den Pollen heranbringt. Gelingt es, den Pollen auf dem festen Lösungsmittel einschichtig auszubreiten, so stehen die Blütenstaubkörner einerseits mit dem Fettlösungsmittel in direkter Berührung, während von der anderen Seite her Wasserdampf ungehindert an den Pollen herantreten kann.

Versuchsvorschrift. Einige Milligramme des zu prüfenden Carotinoids werden mit der gewünschten Menge eines durch Filtration gereinigten, weissen Handelsparaffins vom Smp. 55° bis 60° im Reagenzglas gemischt. Das Gemisch wird sorgfältig über den Schmelzpunkt des Paraffins erwärmt und durch Schütteln das Carotinoid in Lösung gebracht. Ein Tropfen dieser Lösung wird mit einer Pipette auf ein Deckglas übertragen und nach Erstarrung mit Pollen beimpft. Die einfachste Art der Impfung besteht darin, den Blütenstaub mit einer Präpariernadel in möglichst dünner Schicht auf das Paraffin aufzustreichen und überschüssige Pollenkörner durch kräftiges Blasen zu entfernen. Das Deckglas wird auf eine mit Paraffinöl oder Vaseline abgedichtete feuchte Kammer aufgesetzt. Die Keimung erfolgt im verdun-

kalten Thermostaten; Versuchsdauer und optimale Keimungstemperatur sind durch Vorversuche für den Pollen jeder Pflanzenart besonders festzulegen. Im gewünschten Stadium wird die Keimung durch Kaltstellen der feuchten Kammern unterbrochen (Temperatur unter $+5^{\circ}\text{C}$). Um die gekeimten Pollenkörner auszuzählen und die Pollenschläuche auszumessen, ist es am einfachsten, den Paraffintropfen mit einem Messer vom Deckglas abzulösen und den anhaftenden Pollen durch Schwenken in einem Wassertropfen auf einem Objektträger abzuklatschen.

Erfahrungen mit dem Grenzflächenverfahren. Das Grenzflächenverfahren erlaubt, auf einfache Weise den Einfluss beliebiger fettlöslicher Substanzen von relativ grosser Thermostabilität (Schwelle bei zirka 70°C) auf Pollenkeimung und Pollenschlauchwachstum festzulegen, wobei die Konzentration der Testsubstanz leicht abgestuft werden kann. Der Hauptnachteil des Verfahrens besteht darin, dass der Blütenstaub unter sehr unphysiologischen Bedingungen kultiviert wird, was sich darin äussert, dass nur der Pollen weniger Pflanzenarten überhaupt zur Keimung gelangt, wobei die Keimrate zudem selten 30 % überschreitet. Ausserdem haben die Versuche auch gezeigt, dass es nach der beschriebenen Methode nur in beschränktem Masse gelingt, den Pollen einschichtig auf dem Paraffintropfen auszubreiten; ein verhältnismässig hoher Prozentsatz der Blütenstaubkörner kommt dadurch nicht in Kontakt mit dem Fettlösungsmittel und kann daher durch die Testsubstanz nicht beeinflusst werden.

Im Grenzflächenverfahren lässt sich Paraffin durch natürliche oder synthetische Fette ersetzen; so wurde z. B. ein Teil der Versuche mit einem synthetischen Tristearat durchgeführt.

Bei grossen Pollenkörnern kann die Auszählung unter dem Auflichtmikroskop direkt auf dem Paraffin erfolgen. Eine andere Methode besteht darin, den Paraffintropfen in Xylol aufzulösen und die Blütenstaubkörner in diesem Lösungsmittel auszuzählen. Dabei machen sich aber häufig Kondenswassertröpfchen, die der Oberfläche des Paraffins anhaften, störend bemerkbar.

212.3 *Das Suspensionsverfahren*

Als Kulturmedium verwendet man bei dieser Methode eine Suspension von Paraffin in Wasser; die Keimung erfolgt wie bei den anderen Verfahren in der feuchten Kammer.

Versuchsvorschrift. Die zu prüfende lipophile Substanz wird wie beim Grenzflächenverfahren in der gewünschten Konzentration in geschmolzenem Paraffin gelöst. Zirka 2 ccm dieser Lösung werden nach Erstarrung mit zirka 10 ccm destilliertem Wasser überschichtet und beides über den Schmelzpunkt des Paraffins erwärmt. Bei starkem Schütteln bildet sich eine Emulsion von geschmolzenem Paraffin in Wasser; wird dieselbe während der Abkühlung ständig kräftig geschüttelt, so entsteht eine feindisperse Suspension von Paraffin in Wasser, die Glas nicht mehr benetzt und deren grösste Teilchen

in ihren Ausmassen etwa den Pollenkörnern von *Cyclamen persicum* entsprechen ¹⁾). Ein Tropfen dieser Suspension wird auf einen Objektträger übertragen, mit Pollen beimpft und mit einer feuchten Kammer, auf deren Grund sich ein Tropfen destillierten Wassers befindet, zugedeckt. Die Abdichtung der feuchten Kammer erfolgt bei dieser Methode am besten mit Vaseline, um ein Rutschen der aufgesetzten Kammer zu verhindern. Die Keimung im stehenden Tropfen bietet den Vorteil, dass bei der allmählichen Entmischung der Suspension die nicht benetzbaren Paraffinteilchen an die Oberfläche des Tropfens gelangen und dort mit den hydrophoben Pollenkörnern in Kontakt kommen. Die Keimung erfolgt im verdunkelten Thermostaten; Versuchsdauer und Versuchstemperatur werden durch Vorexperimente für jede Pollensorte neu bestimmt. Die Keimung wird im gewünschten Stadium durch Kaltstellen der Kulturen unterbrochen (Temperatur unter $+5^{\circ}\text{C}$). Die Auszählung der gekeimten Pollenkörner und die Ausmessung der Pollenschläuche erfolgt bei dieser Methode ohne besonderes Präparierverfahren direkt auf dem Objektträger.

Erfahrungen mit dem Suspensionsverfahren. Das Suspensionsverfahren erlaubt, thermostabile, lipophile Stoffe und beliebige wasserlösliche Substanzen in ihrem Zusammenwirken auf die Pollenkeimung zu untersuchen. Der Nachteil liegt darin, dass es schwierig ist, die Konzentration des fettlöslichen Stoffes eindeutig abzustufen. Als Vorteil gegenüber dem Grenzflächenverfahren erweist sich die gleichmässigere Keimung und das homogenere Schlauchwachstum. Ausserdem ist es möglich, an Stelle destillierten Wassers eine wässrige Nährlösung zu verwenden und auf diese Weise die Keimrate zu erhöhen. Von dieser Möglichkeit wurde jedoch im Rahmen dieser Arbeit kein Gebrauch gemacht.

In Emulsionen von Oliven- oder Paraffinöl in Wasser keimt der Pollen nicht.

212.4 Das Zentrifugenverfahren

Es scheint mir möglich, die Nachteile des Grenzflächen- und des Suspensionsverfahrens durch eine weitere Methode, das Zentrifugenverfahren, auszuschalten. Da erst einige Vorversuche vorliegen, beschränke ich mich darauf, das Verfahren in seinen Grundzügen zu umreissen.

Der lipophile Stoff wird wie bei den anderen Methoden in Paraffin gelöst. Man lässt die Lösung auf dem Grund eines Zentrifugenglases erstarren und überschichtet mit Wasser, in dem eine grössere Menge Pollen suspendiert ist. Durch dauernde Zentrifugation wird während des Versuches der Blütenstaub ständig in die Grenzfläche zwischen Paraffin und Wasser gedrängt.

¹⁾ Diese Methode zur Herstellung einer Suspension von Paraffin in Wasser wurde mir von Herrn Dr. E. SCHUMACHER, Assistent am Physikalisch-Chemischen Institut der Universität mitgeteilt; ich möchte es nicht unterlassen, ihm dafür meinen besten Dank auszusprechen.

213 Ergänzungen zur Versuchstechnik

213.1 Das pflanzliche Versuchsmaterial

Die Versuche wurden mit Pollen von *Cyclamen persicum* MILL. und von *Corylus Avellana* L. durchgeführt. Für Grenzflächen- und Suspensionsverfahren eignet sich ausserdem Blütenstaub von *Narcissus poeticus* L. und von diploiden Apfelsorten (*Pyrus Malus* var. L.). Dagegen erwies sich Pollen von *Carex elata* ALL., *Galanthus nivalis* L. und *Sambucus nigra* L. für diese beiden Methoden als ungeeignet.

Für die Versuche mit Zykamenblütenstaub verwendete ich Gemische von Pollen einer grossen Zahl verschiedener Handelssorten. Die Keimrate dieser Gemische erreichte unter optimalen Bedingungen etwa 70 %.

213.2 Versuchsbedingungen

Für Grenzflächen- und Suspensionsverfahren haben sich folgende Versuchsbedingungen als geeignet erwiesen:

	Temperatur	Versuchsdauer
<i>Cyclamen persicum</i>	22°—25°	4 h—5 h
<i>Corylus Avellana</i>	22°—23°	4 h—5 h
<i>Narcissus poeticus</i>	23°—24°	4 h
<i>Pyrus Malus</i>	21°—24°	4 h—5 h

213.3 Aufbewahrung des Pollens

Pollen der Versuchspflanzen liess sich während längerer Zeit im Kühlschrank bei Temperaturen von zirka -5°C voll keimfähig aufbewahren; Blütenstaub von *Cyclamen persicum* zeigte noch nach sechs Monaten keine Abnahme der Keimfähigkeit.

213.4 Herstellung von Verdünnungsreihen

Zur Herstellung der Verdünnungsreihen wurde als Ausgangskonzentration eine Stammlösung von 10^{-3} oder 10^{-4} Gewichtsteilen angesetzt, sofern das Carotinoid bei diesen Konzentrationen in Lösung ging. Bei Substanzen, die sich wie die Xanthine und die Carotinoid-Karbonsäuren in Paraffin bei der Konzentration von 1:10 000 nicht vollständig lösen, wählte ich die gesättigte Lösung als Ausgangspunkt. Die absolute Konzentration dieser Stammlösung wurde auf Grund des ungelösten Rückstandes grössenordnungsmässig abgeschätzt.

Ausgehend von der Stammlösung erfolgte die Herstellung der Verdünnungsreihe in geometrischer Progression, wobei sich zwei aufeinanderfolgende Glieder der Reihe zumeist um den Faktor 10 unterscheiden (Symbol für den Ver-

dünnungsfaktor: q). Um von einer Verdünnungsstufe zur anderen überzugehen, wurde zu vier oder fünf Tropfen der Ausgangslösung die $(q-1)$ fache Anzahl Tropfen des reinen Lösungsmittels zugefügt.

213.5 Reinigung der verwendeten Glaswaren und Instrumente

Reagenzgläser wurden nur ein einziges Mal verwendet. Die feuchten Kammern wurden nach Gebrauch abgerieben und zuerst mit Xylol, nachher mit Alkohol gereinigt. Die Pipetten, die zu Verdünnungen der lipophilen Lösungen dienten, brannte ich nach jedem Gebrauch in der Bunsenflamme aus, um allfällige Reste von Carotinoiden zu zerstören. Präpariernadeln, Pinzetten und Skalpelle wurden mit Alkohol desinfiziert und trocken gerieben.

22 Anlage der Versuche

Die meisten Versuche sind nach einem der beiden im folgenden beschriebenen Versuchsschemata durchgeführt worden. Die erste Versuchsanordnung wurde angewendet, um einen bestimmten Stoff auf seine Wirkung zu prüfen und den Schwellenwert der wirksamen Konzentration festzulegen; das zweite Schema erlaubt, zwei beliebige Substanzen in ihrem Zusammenwirken in der Pollenkeimung zu untersuchen. Versuchsanlagen nach einem abweichenden Schema werden in der Beweisführung besonders beschrieben.

221 Versuchsschema zur Prüfung einer bestimmten Substanz in verschiedenen Konzentrationen

Um einen bestimmten Stoff in verschiedenen Konzentrationen auf seine Wirkung in der Pollenkeimung untersuchen zu können, wurde bei wasserlöslichen Substanzen die Kultur im hangenden Tropfen, bei lipophilen Stoffen das Grenzflächenverfahren angewendet.

Jeder Versuch umfasst eine Kontrollserie von 3 bis 8 und bei jeder Verdünnungsstufe eine Testserie von 2 bis 6 feuchten Kammern.

Um den Schwellenwert der wirksamen Konzentration zu bestimmen, wurde eine Verdünnungsreihe der Substanz durchgetestet, die bei geometrischer Progression in der Regel mit dem Faktor $q = 0,1$ angesetzt wurde.

Für die Bewertung der Versuchsergebnisse massgebend sind die in Betracht fallenden Fehlergrenzen. Bei einer Einwage von 1 bis 10 mg der Testsubstanz, die auf einer Analysenwage erfolgte, ist mit einem Wägefehler von $\pm 0,5$ mg zu rechnen. Bei der Herstellung der Verdünnungsreihen nach dem unter 213.4 beschriebenen Vorgehen summieren sich die Fehler jeder einzelnen Verdünnung; der auf diese Weise resultierende Gesamtfehler dürfte jedoch innerhalb der Grenzen $\pm 20\%$ liegen. Berücksichtigt man diese beiden Fehlerquellen, so lässt sich für die Konzentrationsangaben ein maximaler möglicher Fehler von $\pm 40\%$ annehmen.

Bei schwerlöslichen Carotinoiden, bei denen die gesättigte Lösung als Basis für die Verdünnungsreihe diente, sind die Konzentrationsangaben geschätzt und daher nur in bezug auf die Grössenordnung gesichert. Solche Konzentrationsangaben sind im folgenden immer mit «ca.» bezeichnet.

222 Versuchsschema zur Prüfung zweier beliebiger Substanzen in ihrem Zusammenwirken in der Pollenkeimung

Das zweite Versuchsschema wurde entwickelt, um zwei beliebige, wasser- oder fettlösliche Substanzen in ihrem Zusammenwirken auf die Pollenkeimung untersuchen zu können. Die Stoffe werden zuerst einzeln auf ihre Wirkung geprüft, wobei je nach der Löslichkeit die Kultur im hangenden Tropfen oder das Grenzflächenverfahren zur Anwendung gelangt. Um das Zusammenwirken der beiden Substanzen festzustellen, wird je nach den Löslichkeitsverhältnissen das Suspensionsverfahren, die Grenzflächenmethode oder die Kultur im hangenden Tropfen verwendet.

Ein Versuch umfasst eine Versuchsserie und drei Kontrollgruppen von je 6 bis 10 feuchten Kammern. Die erste Kontrolle legt die Keimrate des verwendeten Pollen unter den gewählten Versuchsbedingungen fest; in der zweiten und dritten Kontrolle wird jeder der beiden Teststoffe einzeln auf seine Wirkung geprüft. In der Versuchsserie kombiniert man die Lösungen der zweiten und dritten Kontrolle im gewünschten Mischungsverhältnis. Durch Vergleich der Versuchsserie mit den drei Kontrollen ist es möglich, die gegenseitige Beeinflussung der beiden geprüften Stoffe zu eruieren.

23 Statistische Bearbeitung der Versuche

Die Versuche sind so angelegt worden, dass eine statistische Bearbeitung nach dem *t*-Test von R. A. FISHER möglich ist. Jedes Experiment umfasst Kontroll- und Versuchsserien, die sich aus mehreren Einzelversuchen zusammensetzen. Um eine rationelle statistische Bearbeitung zu ermöglichen, wurden Keimrate und mittlere Schlauchlänge in Einzelkammer und Serie nach standardisierten Verfahren bestimmt.

231 Standardmethode zur Bestimmung der Keimrate

231.1 Bestimmung der Keimrate in der einzelnen feuchten Kammer

Eine einzelne feuchte Kammer enthält in der Regel weit über 1000 Pollenkörner. Für die Bestimmung der Keimprozente beschränkte ich mich auf die Auszählung einer Stichprobengruppe von 6×50 zufällig herausgegriffenen Blütenstaubkörnern. Eine solche Beschränkung ist erlaubt, wenn Gewähr

dafür besteht, dass das Mittel der Stichprobengruppe nicht wesentlich vom demjenigen Wert der Keimrate abweicht, der durch Auszählen sämtlicher Pollenkörner einer feuchten Kammer erhalten wird. Da der Durchschnitt der Stichprobengruppe um so eher der Keimrate aus der Gesamtpollenmenge entspricht, je homogener die Pollenkeimung ist, unterwirft man die Stichprobengruppe einem Homogenitätstest. Inhomogene Kulturen werden von der weiteren Auswertung ausgeschaltet, um die Fehlermöglichkeit auszuschliessen, dass das Mittel der Stichprobengruppe wesentlich vom Wert differiert, der auf der Auszählung aller Pollenkörner einer Kammer basiert.

Die Homogenität wurde statistisch nach einem modifizierten Chi^2 -Test für jede Stichprobengruppe geprüft²⁾.

Die Werte für Chi^2 werden nach der folgenden Formel berechnet:

$$Chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{mpq} = \frac{SQ}{mpq}$$

Die Symbole in der Formel weisen folgende Bedeutung auf:

- x_i = Anzahl der gekeimten Pollenkörner in jeder Einzelstichprobe vom Umfang m
 $\bar{x}$ = Arithmetisches Mittel der Stichprobengruppe
 m = Anzahl der ausgezählten Pollenkörner in der einzelnen Stichprobe
 p = Prozentsatz der gekeimten Pollenkörner in der Stichprobengruppe
 q = $1-p$
 n = Anzahl der Einzelstichproben in der Stichprobengruppe

SQ = Abgekürzte Schreibweise für den Ausdruck $\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2$

Aus dem Wert für Chi^2 wird die Wahrscheinlichkeit P_{Hom} für den Freiheitsgrad $N - n - 1$ bestimmt; dieser Wert sagt aus, mit welcher Wahrscheinlichkeit aus einer normal verteilten Grundgesamtheit eine Stichprobengruppe von 6×50 Pollenkörnern, deren Streuung den beobachteten oder einen noch grösseren Umfang annimmt, rein zufällig gezogen wird.

Zur Veranschaulichung sei ein Beispiel angeführt:

x_i	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$		
7	-2	4	m	= 50
10	1	1	p	= 18 %
8	-1	—	q	= 72 %
9	—	1	pq	= 0,1296
11	2	—	mpq	= 6,48
9	—	4	Chi^2	= 18,0 : 6,48 = 2,78
54		$SQ = 10$	N	= $n - 1 = 6 - 1 = 5$
$\bar{x} = 9$			P_{Hom}	= 0,84

²⁾ Das modifizierte Verfahren verdanke ich einer Mitteilung von Herrn Prof. Dr. A. LINDER, E.T.H. Zürich.

Zur Rationalisierung des Verfahrens sind die Produkte mpq für die möglichen Werte von p und q bei $m = 50$ tabelliert worden.

Bei einer Wahrscheinlichkeit $P_{Hom} \leq 0,05$ wurde die Kultur als inhomogen betrachtet; die Kammer von der weiteren Auswertung ausgeschlossen.

231.2 Bestimmung der Keimrate in jeder Versuchsserie

Nach Ausscheidung der inhomogenen Einzelversuche wurde die Keimrate jeder Serie als arithmetisches Mittel der n Einzelversuche berechnet und die Serie dem unter 231.1 beschriebenen Homogenitätstest unterzogen ($m = 300$). Inhomogene Serien mit einem $P_{Hom} \leq 0,05$ wurden von der weiteren Auswertung ausgeschlossen. Solche inhomogenen Gruppen traten sehr selten auf und konnten immer auf Versuchsfehler, wie z. B. ungenügende Abdichtung der Leuchten Kammern, zurückgeführt werden.

231.3 Vergleich von Serien

Um zwei Serien miteinander zu vergleichen, diene der t -Test von R. A. FISHER (vgl. A. LINDER 1951). Zur Berechnung von t wird die folgende Formel verwendet:

$$t = \frac{(\bar{x}' - \bar{x}'')}{s} \cdot \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}}$$

wobei s^2 nach dem folgenden Ausdruck bestimmt wird:

$$s^2 = \frac{1}{n_1 + n_2 - 2} \left[\sum_{i=1}^{n_1} (x_i' - \bar{x}')^2 + \sum_{i=1}^{n_2} (x_i'' - \bar{x}'')^2 \right] = \frac{1}{n_1 + n_2 - 2} [SQ_1 + SQ_2]$$

Die Symbole besitzen folgende Bedeutung:

n_1 = Anzahl der Einzelversuche in der ersten Serie

n_2 = Anzahl der Einzelversuche in der zweiten Serie

x_i' = Einzelwerte der ersten Serie

x_i'' = Einzelwerte der zweiten Serie

$\bar{x}'$ = Arithmetisches Mittel der ersten Serie

$\bar{x}''$ = Arithmetisches Mittel der zweiten Serie

SQ_1 = Abgekürzte Schreibweise für den Ausdruck $\sum (x_i' - \bar{x}')^2$

SQ_2 = Abgekürzte Schreibweise für den Ausdruck $\sum (x_i'' - \bar{x}'')^2$

Aus dem Wert t lässt sich die Wahrscheinlichkeit P dafür bestimmen, dass die beiden Serien aus der gleichen, normal verteilten Grundgesamtheit stammen; als Freiheitsgrad ist der Wert $N = n_1 + n_2 - 2$ zu wählen.

In Übereinstimmung mit der üblichen Konvention werden als Sicherheitsschwellen die Werte 0,05, 0,01 und 0,001 angenommen. Zur Bezeichnung der Wirkung und des Grades der statistischen Sicherung werden in dieser Arbeit folgende Zeichen verwendet:

- I = Indifferenz
 F = Förderung
 H = Hemmung
 (F, H)* = Wirkung statistisch gesichert: $0,05 \geq P > 0,01$
 (F, H)** = Wirkung statistisch stark gesichert: $0,01 \geq P > 0,001$
 (F, H)*** = Wirkung statistisch sehr stark gesichert: $P < 0,001$
 (F, H) = Wirkung lässt sich statistisch nicht sichern

In den Belegen sind jeweils die Werte von n und SQ für jede Serie angegeben, um eine Überprüfung des t -Tests zu ermöglichen.

Als Beispiel für die Anwendung des t -Tests sei der Vergleich der Kontrollserie mit der Serie bei der Konzentration des Hemmstoffes β -Carotin-diepoxyd $c = 10^{-5}$ Gewichts-
 teile angeführt (vgl. S. 36).

$\bar{x}' = 19,6 \text{ ‰}$	$SQ_1 = 48,1$	$n_1 = 8$
$\bar{x}'' = 10,4 \text{ ‰}$	$SQ_2 = 5,2$	$n_2 = 4$
$(\bar{x}' - \bar{x}'') = \underline{9,2 \text{ ‰}}$	$s^2 = 53,3$	$10 = \underline{5,33}$

$$t = \frac{9,2}{\sqrt{5,33}} \cdot \sqrt{\frac{32}{12}} = 6,54$$

Freiheitsgrad $N = n_1 + n_2 - 2 = 10$

P für den Freiheitsgrad $10 \ll 0,001$, H***

232 Standardmethode zur Bestimmung der mittleren Schlauchlänge

232.1 Bestimmung der mittleren Schlauchlänge in jeder einzelnen feuchten Kammer

In jedem Einzelversuch wurden 50 zufällig herausgegriffene Pollenschläuche ausgemessen und in Klassen mit Intervallen von 0,1 mm eingeteilt. Aus den Massen der 50 Schläuche wurde das arithmetische Mittel bestimmt und die mittlere quadratische Abweichung s nach der folgenden Formel berechnet:

$$s^2 = \frac{1}{n-1} \int_{j=1}^M f_j (x_j - \bar{x})^2$$

Die Symbole besitzen die folgende Bedeutung:

- x = Arithmetisches Mittel aus den n Einzelmessungen
 n = Anzahl der Einzelmessungen, im Standardverfahren $n = 50$
 x_j = Klassenmitte der mit j bezeichneten Klasse
 f_j = Häufigkeit der Werte in der mit j bezeichneten Klasse
 M = Anzahl der Klassen

232.2 Vergleich der mittleren Schlauchlänge in verschiedenen Serien

Serien wurden nach dem t -Test miteinander verglichen. Als Sicherheitsschwellen wurden die Werte 0,05, 0,01 und 0,001 gewählt; die Zeichen zur Bezeichnung der Wirkung und des Grades der statistischen Sicherung sind die gleichen wie unter 231.3.

232.3 Methode zur Prüfung der Korrelation zwischen Keimrate und Pollenschlauchwachstum

Um die Korrelation zwischen Schlauchlänge und Keimrate zu untersuchen, wurde nach den bei A. LINDER 1951 angegebenen Verfahren der Korrelationskoeffizient r berechnet und statistisch nach dem t -Test geprüft. Für Einzelheiten dieser Verfahren sei auf die Literatur verwiesen.

3 Beweisführung

31 Die Wirkung von Carotinoiden bekannter Konstitution auf die Keimung von Zyklopenpollen

Der erste Schritt in der Beweisführung bestand darin, Carotinoide bekannter Konstitution in ihrer Wirkung auf die Keimung von Zyklopenpollen zu untersuchen und gleichzeitig die Schwellenwerte der wirksamen Konzentrationen zu bestimmen.^{*)} In dieser ersten Serie von Versuchen wird keine Rücksicht darauf genommen, ob die betreffenden Carotinoide in der Versuchspflanze selbst auftreten; die Auswahl der Testsubstanzen erfolgte vor allem mit dem Ziel, Aufschlüsse über die Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und biologischer Wirkung zu erhalten.

311 Zusammenstellung der Versuchsergebnisse

Die Resultate der Versuche sind in Tabelle 1 auf Seite 16 zusammengestellt; das Belegmaterial ist in gleicher Reihenfolge in Abschnitt 4 auf den Seiten 31—36 aufgeführt.

Erläuterungen zur Tabelle 1:

Konzentrationen:

Die Konzentrationen werden in Gewichtsteilen angegeben; eine Konzentration von 10^{-4} bedeutet z. B., dass ein Gewichtsteil des Carotinoids in 10 000 Gewichtsteilen Paraffin gelöst ist.

^{*)} Die Carotinoidpräparate wurden mir vom Chemischen Institut der Universität Zürich zur Verfügung gestellt. Für diese Unterstützung möchte ich dem Leiter des Institutes, Herrn Prof. Dr. P. KARRER, bestens danken.

Symbole zur Bezeichnung der Wirkung:

I = Indifferenz, F = Förderung, H = Hemmung

Symbole zur Bezeichnung des Grades der statistischen Sicherung:

*** = statistisch sehr stark gesichert: $P < 0,01$

** = statistisch stark gesichert: $0,01 \geq P > 0,001$

* = statistisch gesichert: $0,05 \geq P > 0,01$

() = statistisch ungesicherte Wirkung

Tab. 1 Die Wirkung von Carotinoiden bekannter Konstitution auf die Keimung von Zyklamenpollen

Carotinoid		10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
Lycopin ¹⁾			(F)	F**	F*	I	I
Crocetin ¹⁾			F**	(F)	F***		
Bixin ¹⁾				F**	I		I
Capsanthin ¹⁾			F**	F*	I	I	I
Xanthophyll ¹⁾			I		I	I	
Xanthophyllepoxyd	F**	I		I			
Xanthophylldipalmitat		F**	I	I	I	I	
Kryptoxanthin ¹⁾			F*	I	F*	I	
Zeaxanthin ¹⁾			I	I		I	I
Antheraxanthin ¹⁾			F*	I	I	I	
Physalien		F**	I	I	I	I	
Eschscholtzxanthin		F***	I	I	I		
Dihydro- β -carotin	F***	F*	F*	I	I	I	I
γ -Carotin			I	I	I	I	
ϵ_1 -Carotin		I	H*	I		I	I
Aurochrom ¹⁾				I	I	I	I
Mutatochrom			H***	H***	I	I	
Luteochrom		H***	H*	H**	I	I	
Flavoxanthin ¹⁾			H*	H**	I	I	
Chrysanthemaxanthin ¹⁾			H**	(H)	I	H*	I
α -Carotin			H***	H***	I	H*	
β -Carotin			H***	H***	H***	I	
β -Carotin-monoepoxyd			H***	(H) ²⁾	(H) ²⁾	I	
β -Carotin-diepoxyd		H***	H***	H***	(H)		
Decapreno- β -carotin	H**	H**		H**	(H)	I	I

¹⁾ Schwerlösliche Carotinoide, die Konzentrationen sind in bezug auf die Größenordnung abgeschätzt.

²⁾ Nach vier Stunden waren die stark verdünnten Lösungen (10⁻⁵ — 10⁻⁷) weitgehend entfärbt und damit inaktiviert. β -Carotin-monoepoxyd wird auf Grund der strukturellen Ähnlichkeit mit β -Carotin und β -Carotin-diepoxyd in die gleiche Gruppe eingereiht.

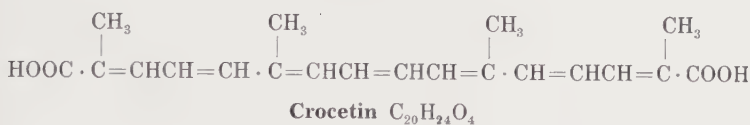
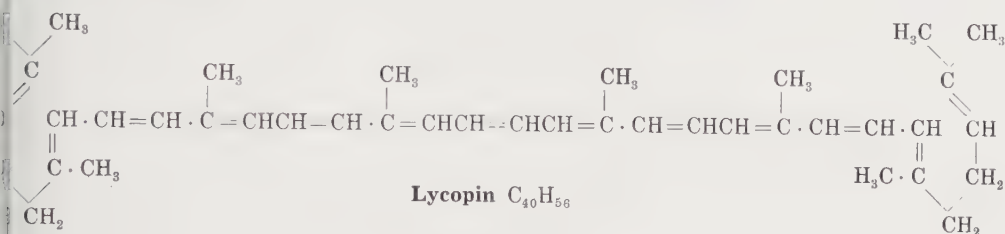
312 Gruppierung der geprüften Carotinoide nach ihrer Wirkung und dem Schwellenwert der wirksamen Konzentrationen

Die Experimente zeigen, dass Carotinoide die Pollenkeimung von *Cyclamen persicum* beeinflussen. Nach ihrer Wirkung lassen sich die 25 geprüften Carotinoide in verschiedene Gruppen einteilen; berücksichtigt man die Schwellen-

werte der wirksamen Konzentrationen, so erweist sich eine Klassierung in sechs Gruppen als gegeben. Im folgenden sind diese Gruppen der Reihe nach aufgeführt; die Zusammenstellung beginnt mit den extremen Förderstoffen und schliesst mit den extremen Hemmstoffen ab.

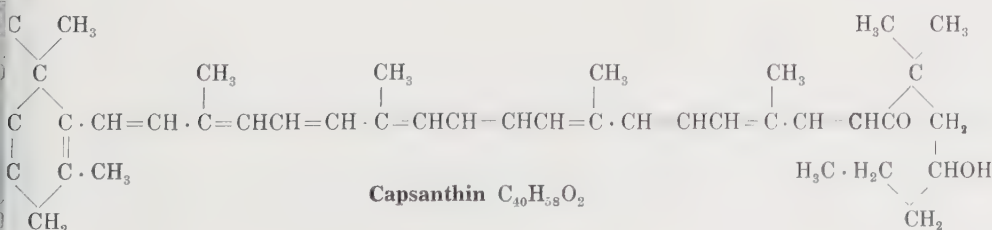
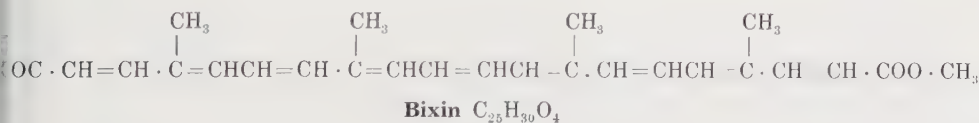
312.1 Extreme Förderstoffe

Extreme Förderstoffe wirken noch in Verdünnungen von 10^{-6} Gewichtsteilen stimulierend auf die Keimung von Zykamenpollen. In diese beiden Gruppen gehören Lycopin und Crocetin (Belegmaterial S. 31).



312.2 Starke Förderstoffe

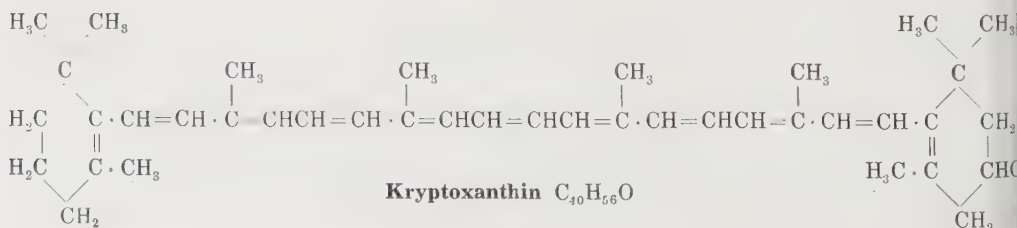
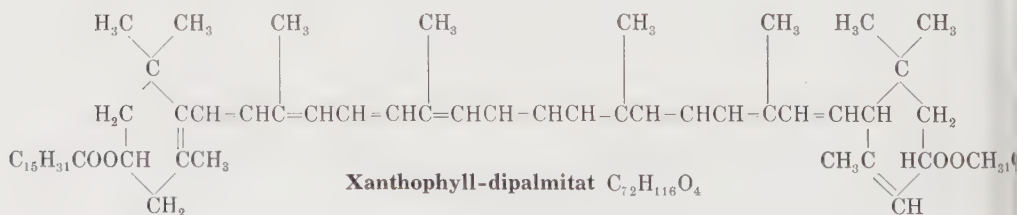
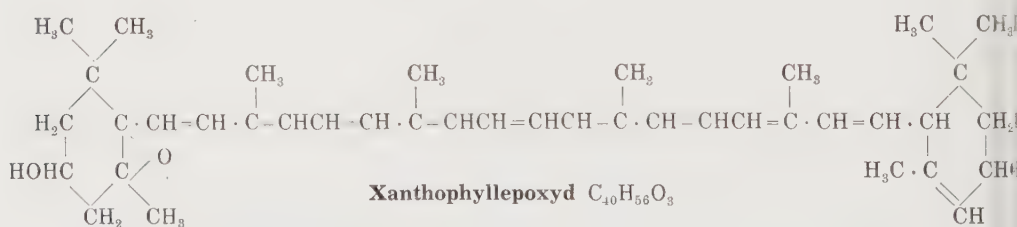
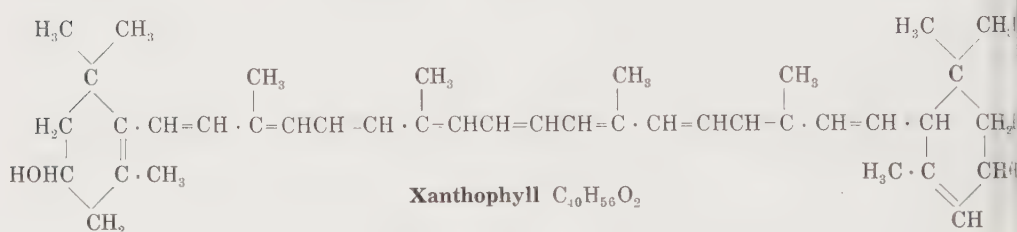
Die Gruppe der starken Förderstoffe mit der Wirkungsschwelle bei einer Konzentration zwischen 10^{-5} und 10^{-6} Gewichtsteilen wird durch die beiden Carotinoide Bixin und Capsanthin gebildet.

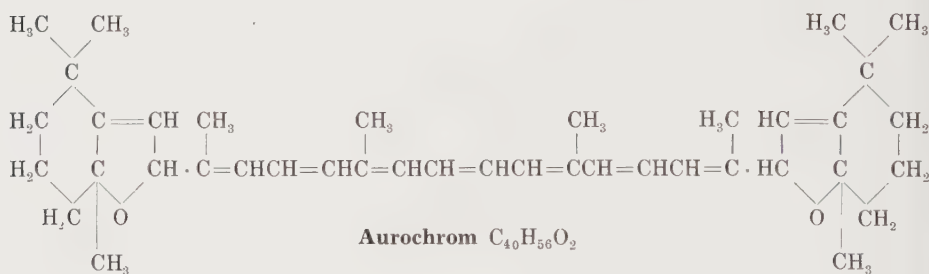
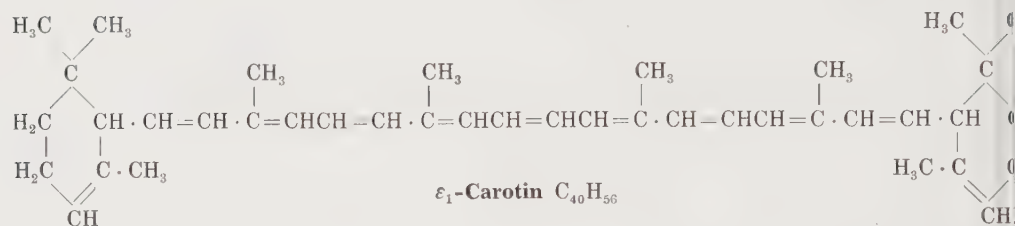
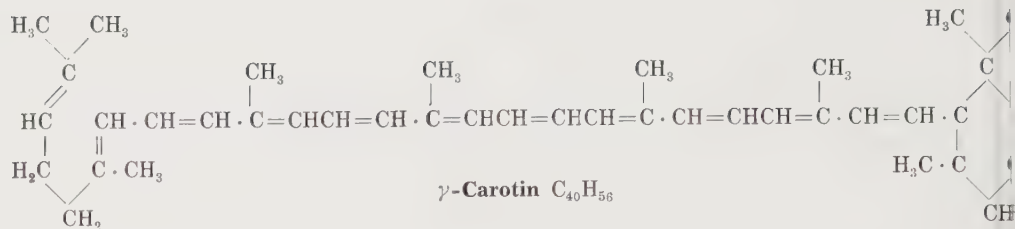


312.3 Schwache Förderstoffe

Bei den schwachen Förderstoffen liegt die Wirkungswelle bei einer Konzentration von 10^{-4} Gewichtsteilen; Konzentrationen von 10^{-3} wirken stimulierend auf die Keimung. Die Gruppe umfasst eine Reihe von Xanthenen: Kryptoxanthin, Xanthophyll-epoxyd, Xanthophyll-dipalmitat, Antheraxanthin und Physalien. Auf Grund der strukturellen Ähnlichkeit werden Xanthophyll und Zeaxanthin ebenfalls in diese Klasse eingereiht, obwohl sich diese beiden Stoffe ihrer Schwerlöslichkeit in Paraffin wegen bei der entscheidenden Konzentration von 10^{-3} nicht prüfen lassen.

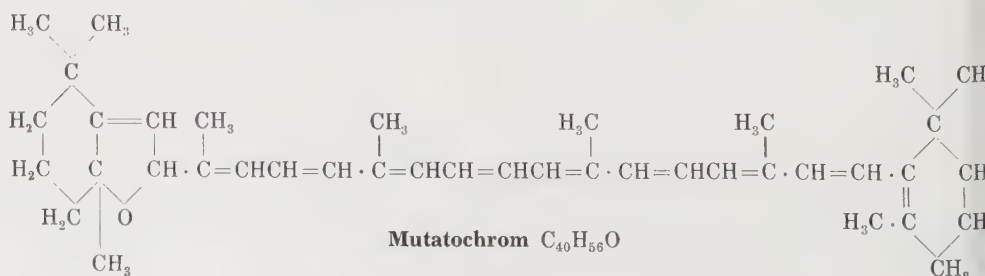
Die Gruppe wird vervollständigt durch Dihydro- β -Carotin und Eschscholtzxanthin.

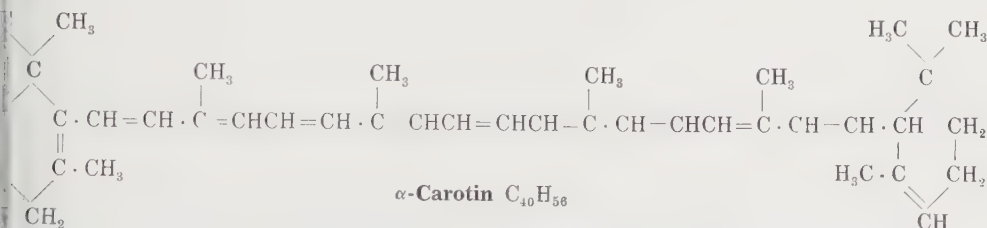


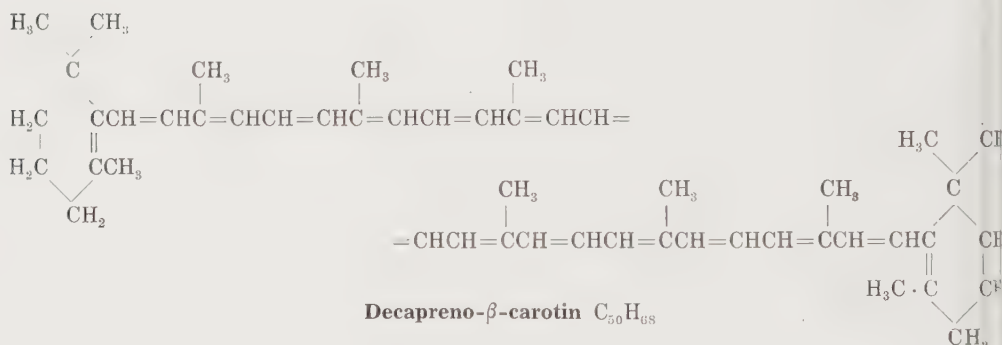
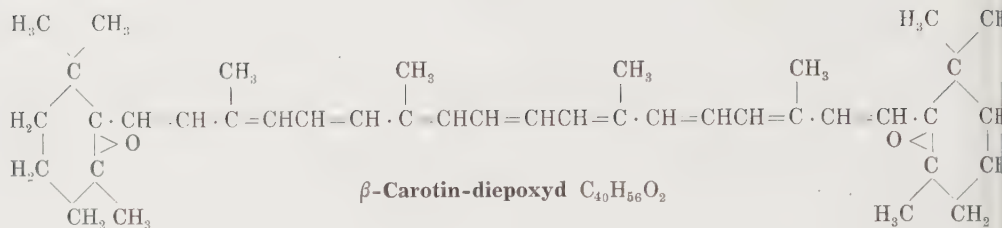


312.5 Starke Hemmstoffe

Der Gruppe der starken Hemmstoffe (Wirkungsschwelle bei einer Konzentration zwischen 10^{-5} und 10^{-6} Gewichtsteilen) sind fünf Carotinoide zuzurechnen: die vier monofuranoiden Oxyde Mutatochrom, Luteochrom, Flavoxanthin und Chrysanthemaxanthin; ausserdem gehört α -Carotin in diese Klasse.







313 Beziehungen zwischen biologischer Wirkung und chemischer Konstitution

Weisen Stoffe verschiedener chemischer Konstitution gleiche physiologische Wirkung auf, so deutet das daraufhin, dass die vorhandenen Unterschiede im chemischen Bau für die biologische Wirksamkeit bedeutungslos sind. Bei der Untersuchung über den Einfluss von Carotinoiden auf die Keimung von Zykamenpollen hat es sich gezeigt, dass eine Reihe von Abweichungen in der chemischen Konstitution ohne Veränderung der biologischen Wirkung bleiben. Da die Zahl der untersuchten Carotinoide mit 25 noch klein ist, seien diese Feststellungen mit allem Vorbehalt wiedergegeben.

1. Epoxyd e weisen die gleiche Wirkung auf wie die Carotinoide, von denen sie sich herleiten.

Diese Aussage wird belegt durch die Beobachtung, dass das Epoxyd Luteochrom die gleiche Wirkung wie Mutatochrom aufweist und durch die Feststellung, dass sich β -Carotin-monoepoxyd und β -Carotin-diepoxyd in ihrer Wirkung mit β -Carotin decken.

Auf Grund dieser Übereinstimmung sind Xanthophyll und Zeaxanthin in die Gruppe der schwachen Förderstoffe eingeordnet worden, obwohl sich diese beiden Carotinoide ihrer Schwerlöslichkeit in Paraffin wegen bei der entscheidenden Konzentration von 10^{-3} nicht prüfen lassen.

2. Die Dipalmitinsäureester des Xanthophylls und des Zeaxanthins wirken gleich wie die Epoxyde der Carotinoide, von denen sie sich ableiten. Nimmt man Übereinstimmung in der Wirkung zwischen

den Epoxyden und den zugrunde liegenden Carotinoiden an, so lässt sich die Wirkung der Dipalmitinsäureester auf die Carotinoidkomponente zurückführen.

3. Die isomeren Carotinoide Flavoxanthin und Chrysanthemaxanthin decken sich in ihrer Wirkung auf die Pollenkeimung.

4. Für die biologische Wirkung der Carotinoide ist die Konfiguration der Endgruppen von entscheidender Bedeutung, während die Länge der die Endgruppen verbindenden Isoprenkette unwesentlich zu sein scheint.

Belegt wird diese Feststellung durch die Beobachtung, dass Decapreno- β -carotin mit einer um zwei Isoprenglieder verlängerten Kette die gleiche Wirkung wie β -Carotin aufweist.

Bei Berücksichtigung dieser Punkte ist es möglich, in jeder Gruppe von Carotinoiden gleicher Wirkung bestimmte Bautypen als Träger für die biologische Wirksamkeit herauszuschälen. Zwei Gesetzmässigkeiten scheinen trotz des geringen Materials einigermassen gesichert zu sein:

a) Extreme Hemmstoffe lehnen sich in ihrem Bau eng an das β -Carotin an. (β -Carotin, β -Carotin-monoepoxyd, β -Carotin-di-epoxyd, Decapreno- β -carotin.)

b) Offenkettige Carotinoide sind extreme oder starke Förderstoffe. (Lycopin, Crocetin, Bixin.)

Weitere Beziehungen sind bei dem geringen Umfang des geprüften Materials noch fraglich; auf ihre Darlegung sei daher hier verzichtet.

32 Die Wirkung von Carotinoiden unbekannter Konstitution aus Antheren und Pollen von *Cyclamen persicum* auf die Keimung von Zykamenpollen

Staubgefässe und Blütenstaub von *Cyclamen persicum* wurden von P. KARRER und E. LEUMANN 1951 auf ihren Gehalt an Carotinoiden untersucht. Spektroskopisch konnten β -Carotin und Lycopin nachgewiesen werden; ausserdem traten zwei epiphasische Carotinoide auf, deren längstwellige Absorptionsmaxima in CS_2 bei 503 m μ (Fraktion A) bzw. 459 m μ (Fraktion B) liegen. Diese beiden Pigmente konnten nicht in kristallisierter Form erhalten werden, da ihre Mengen zu klein waren, und sie ausserdem mit grossen Quantitäten von Begleitstoffen vermengt auftraten.

Auf Grund der Lage im Chromatogramm und der Mischchromatogramme mit reinen Farbstoffen wird von den Autoren die Möglichkeit in Betracht gezogen, dass Fraktion A mit Neurosporin, Fraktion B mit β -Dihydro-carotin identisch sein könnte.

Beide Fraktionen wirkten stark hemmend auf die Keimung von Zykamenpollen. Obwohl sich die Ausgangskonzentrationen nur grob abschätzen liessen, da die Stoffe nicht kristallisiert vorlagen, ist anzunehmen, dass beide Pigmente in die Gruppe der starken oder der extremen Hemmstoffe einzu-reihen sind. (Belegmaterial S. 36—37.)

33 Die Wirkung von Carotinoiden auf das Pollenschlauchwachstum von *Cyclamen persicum*

Versuche, die in einem anderen Zusammenhang durchgeführt worden waren, liessen eine positive Korrelation zwischen Keimrate und Schlauchwachstum bei Zykamenpollen vermuten. Um diese Annahme zu prüfen, wurde in einem Versuch die Keimrate durch Zugabe von fördernden oder hemmenden Carotinoiden in einem möglichst grossen Bereich variiert und in jeder Kammer Keimrate und mittlere Schlauchlänge bestimmt. Das Experiment umfasst 22 feuchte Kammern, von denen je sieben mit dem Förderstoff Crocetin (Konzentration ca. 10^{-5} Gewichtsteile) und dem Hemmstoff β -Carotin (Konzentration 10^{-3} Gewichtsteile) beschickt waren, während in den übrigen Kammern der Blütenstaub auf Paraffin allein, ohne Zusatz von Wirkstoffen, zur Keimung gebracht wurde.

Die Resultate des Versuches finden sich auf Seite 37. Die Keimrate wurde wie üblich durch Auszählen von 6×50 Pollenkörnern ermittelt; die mittlere Schlauchlänge basiert auf der Ausmessung von 50 zufällig herausgegriffenen Schläuchen.

Die Keimrate der verschiedenen Kammern liegt zwischen 9,3 % und 28,7 %; die mittlere Schlauchlänge variiert von 0,039—0,095 mm, wobei mit zunehmender Keimrate auch die mittlere Schlauchlänge ansteigt. Der Korrelationskoeffizient beträgt + 0,70; die positive Korrelation ist statistisch sehr stark gesichert.

Der Nachweis der gleichsinnigen Wirkung von Carotinoiden auf Keimung und Schlauchwachstum erlaubt es, die Ergebnisse der Keimungsversuche auf das Schlauchwachstum zu übertragen, indem sich annehmen lässt, dass sich die Einteilung der Carotinoide nach ihrer Wirkung auf die Pollenkeimung in einer entsprechenden Gruppierung der Pigmente nach ihrem Einfluss auf das Pollenschlauchwachstum spiegelt.

34 Die biologische Bedeutung der Carotinoide für die Pflanze

Untersuchungen über die biologische Bedeutung der Carotinoide haben von den in der Pflanze selbst auftretenden Farbstoffen auszugehen. Von P. KARRER und E. LEUMANN 1951 wurden in den Antheren und im Blütenstaub von *Cyclamen persicum* β -Carotin und Lycopin spektroskopisch nachgewiesen; ausserdem haben diese beiden Autoren zwei epiphasische Fraktionen A und B isoliert, die möglicherweise mit Neurosporin und β -Dihydrocarotin identisch sind.

Diese vier Stoffe haben folgende Wirkung auf Keimung und Schlauchwachstum von Zykamenpollen:

β -Carotin: Hemmstoff, Wirkungsschwelle bei der Konzentration von 10^{-6} — 10^{-7} .

Fraktion A: Hemmstoff, Wirkungsschwelle bei der Konzentration von ca. 10^{-6} .

Fraktion B: Hemmstoff, Wirkungsschwelle bei der Konzentration von ca. 10^{-6} .
Lycopin: Förderstoff, Wirkungsschwelle bei der Konzentration von ca. 10^{-6} .

Aus dieser Zusammenstellung geht hervor, dass in den Antheren und im Pollen von *Cyclamen persicum* hemmende Carotinoide überwiegen. Von dieser Feststellung ausgehend wurde die Hypothese aufgestellt, dass die physiologische Rolle der Antherencarotinoide darin bestehe, ein vorzeitiges Auskeimen der Pollenkörner in den Staubgefäßen zu verhindern. Wenn diese Annahme richtig ist, so muss im Stempel der Samenpflanze ein Prinzip vorhanden sein, das imstande ist, diese Hemmwirkung aufzuheben und eventuell in eine Förderwirkung umzuwandeln, da die Beobachtung zeigt, dass Pollen auf der Narbe sofort auszukeimen vermag.

Zur experimentellen Prüfung dieser Hypothese wurde die eingeschränkte, präzisierte Fragestellung gewählt: Verfügt die unbefruchtete Samenanlage von *Cyclamen persicum* über einen wasserlöslichen Stoff, der imstande ist, die Hemmwirkung der Antherencarotinoide aufzuheben oder in eine Förderwirkung umzuwandeln?

Für die Versuche wurden unbefruchtete Samenanlagen einer bestimmten Zyklamensorte ausgewählt, welche in einem bestimmten Entwicklungsstadium für sich allein die Pollenkeimung nicht beeinflussen, um die Möglichkeit auszuschliessen, dass eine Erhöhung der Keimrate auf indirekte Wirkung, wie z. B. die Abgabe von Nährstoffen an den Pollen, zurückgeführt werden könnte. Als Versuchsmethode war das Suspensionsverfahren angezeigt; die Carotinoide wurden in Paraffin gelöst, die Samenanlagen der wässrigen Phase beigegeben.

Versuche wurden mit den beiden Fraktionen A und B und mit β -Carotin durchgeführt; die Ergebnisse finden sich auf den Seiten 38—39.

Die Experimente zeigen, dass es möglich ist, die Hemmwirkung der drei geprüften Carotinoide durch Zugabe von unbefruchteten Samenanlagen aufzuheben; eine Umwandlung in eine Förderwirkung ist statistisch für die Versuche mit Fraktion B und β -Carotin stark gesichert.

Damit halte ich den Wahrscheinlichkeitsbeweis für erbracht, dass Carotinoide Wirkstoffe der pflanzlichen Befruchtungsphysiologie darstellen; die in den Antheren und im Blütenstaub von *Cyclamen persicum* auftretenden Carotinoide verhindern ein vorzeitiges Auskeimen des Zyklamenpollens; die Hemmwirkung wird nach der Bestäubung durch einen wasserlöslichen Stoff aus dem Stempelgewebe aufgehoben und möglicherweise in eine Förderwirkung umgewandelt.

Die weiteren Untersuchungen beschäftigen sich nun mit Experimenten, die zum Ziel haben, den Angriffspunkt der Carotinoide in der Pollenkeimungsphysiologie festzulegen und Anhaltspunkte über die chemische Natur des Stoffes zu gewinnen, der imstande ist, die Hemmwirkung aufzuheben.

35 Untersuchungen über den Angriffspunkt der Carotinoide in der Pollenkeimungsphysiologie

351 Die Arbeitshypothesen und ihre Grundlagen

Aus der Beobachtung, dass Carotinoide Pollenkeimung und Pollenschlauchwachstum bei Zykamen gleichsinnig beeinflussen, ergeben sich Anhaltspunkte für zwei Hypothesen über den Angriffspunkt dieser Pigmente in der pflanzlichen Zelle. Die erste Vermutung, im folgenden kurz als Grundumsatzhypothese bezeichnet, erklärt diese positive Korrelation mit der Annahme, dass durch Carotinoide primär der Grundumsatz im Pollenkorn beeinflusst wird, was sich durch entsprechende Veränderungen der Keimungs- und Schlauchwachstumsvorgänge manifestiert.

Die zweite Vermutung, als Wuchsstoffhypothese bezeichnet, nimmt an, dass die Carotinoide primär das Streckungswachstum der Pollenschläuche beeinflussen; erfolgt eine Hemmung des Pollenschlauchwachstums in einem frühen Stadium, so wird der Pollenschlauch gar nicht sichtbar, was eine Herabsetzung der Keimrate in der feuchten Kammer zur Folge hat. Zugabe eines Förderstoffes erlaubt andererseits denjenigen Pollenkörnern, bei denen dieser Wirkstoff im Minimum vorhanden ist, Schläuche auszubilden.

Für beide Hypothesen lassen sich Argumente ins Feld führen. In Analogie zu den «gelben Fermenten» von WARBURG lässt sich vermuten, dass Carotinoide oder chemisch aktive Spaltprodukte derselben¹⁾ als Wirkgruppen von Atmungsfermenten auftreten könnten. Gestützt wird diese Hypothese vor allem durch die Beobachtungen von A. FODOR und R. SCHOENFELD 1931, welche nachgewiesen haben, dass kolloidale Carotinlösungen als Redoxkörper in Frage kommen.

Die Wuchsstoffhypothese basiert auf Beobachtungen von Wechselwirkungen zwischen Carotinoiden und pflanzlichen Wuchsstoffen. Eine solche Beziehung wurde von F. KOEGL und G. J. SCHURINGA 1944 aufgedeckt, indem von diesen beiden Autoren gezeigt wird, dass Carotinoide eine sensibilisierende Wirkung auf die photochemische Inaktivierung von Auxin-a-lakton ausüben. Einen weiteren Hinweis bilden die Arbeiten von E. BÜNNING 1937a, 1937b über die Rolle des β -Carotins bei phototropischen Krümmungsvorgängen.

352 Die Prüfung der Grundumsatzhypothese

Aus der Überlegung heraus, dass sich Veränderungen des Grundumsatzes in entsprechenden Schwankungen der Atmung auswirken und dass Grundumsatzprozesse zell- und nicht artspezifisch verlaufen, ergaben sich zwei experimentell entscheidbare Fragestellungen:

- a) Beeinflussen Carotinoide die Atmung von Pollenkörnern?
- b) Ist die Wirkung der Carotinoide bei Pollen verschiedener Pflanzenarten übereinstimmend?

¹⁾ Diese Vermutung wurde von Herrn Prof. Dr. M. VISCONTINI, Zürich, mündlich geäußert.

Ausserdem erwies es sich als lohnend, gleichzeitig zu untersuchen, wie Vitamin A als chemisch aktives Spaltprodukt von Carotinoiden die Pollenkeimung beeinflusst.

352.1 Der Einfluss von Carotinoiden auf die Atmung von Pollenkörnern

Um den Einfluss von Carotinoiden auf die Atmung von keimenden Pollenkörnern zu untersuchen, wurde Zykamenblütenstaub nach der Suspensionsmethode kultiviert. Die eine Serie der Versuchsgefässe wurde mit dem Hemmstoff β -Carotin (Konzentration 1:1000), die andere mit dem Förderstoff Lycopin (gesättigte Lösung) beschickt. Um die Wirkung der beiden Carotinoide auf die Atmung festzustellen, wurde im Warburgapparat periodisch der Sauerstoffverbrauch registriert⁵⁾.

Der Versuch ergab, dass während der atmungsintensivsten Phase der Quellung und der beginnenden Keimung keine Unterschiede im Sauerstoffverbrauch der beiden Versuchsserien auftraten; es scheint daher, dass Carotinoide primär nicht in die Atmungsprozesse der pflanzlichen Zelle eingreifen. Dieses Ergebnis muss allerdings noch durch weitere Experimente gesichert werden.

Das Belegmaterial ist dieser Arbeit nicht beigegeben.

352.2 Die Wirkung von Carotinoiden auf die Keimung von Pollen anderer Pflanzenarten

Um festzustellen, ob Carotinoide art- oder zellspezifisch wirken, untersuchte ich den Einfluss dieser Pigmente auf die Keimung von Haselnusspollen. Die Versuchsergebnisse finden sich auf Seite 39.

Es wurden die drei Carotinoide β -Carotin, β -Carotin-monooxyd und Crocetin auf ihre Wirkung auf die Pollenkeimung von *Corylus Avellana* untersucht. Die Resultate sind im folgenden zusammenfassend dargestellt und mit den Ergebnissen der Versuche an Zykamenpollen verglichen.

	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
β -Carotin					
Zykamenpollen		H***	H***	H***	I
Haselnusspollen		F**	F***	F*	I
β -Carotin-monooxyd					
Zykamenpollen		H***	I	I	I
Haselnusspollen	F*	F**	(F)	F***	I
Crocetin					
Zykamenpollen		F**	(F)	F***	
Haselnusspollen			H*	I	I

⁵⁾ Die Messungen im Warburgapparat verdanke ich Herrn Dr. E. EICHENBERGER, Assistent am Pflanzenphysiologischen Institut der E.T.H., Zürich.

Die drei geprüften Carotinoide β -Carotin, β -Carotin-monoepoxyd und Crocetin differieren sowohl in qualitativer wie auch in quantitativer Hinsicht in ihrer Wirkung auf die Pollenkeimung von *Cyclamen persicum* und *Corylus Avellana*.

352.3 Die Wirkung von Vitamin A auf die Keimung von Zykamen- und Haselnusspollen

Um zu prüfen, ob chemisch aktive Spaltprodukte die gleiche Wirkung wie nicht abgebaute Carotinoide aufweisen, wurde Vitamin A als Alkohol und Aldehyd in seiner Wirkung auf die Keimung von Haselnuss- und Zykamenblütenstaub untersucht. (Versuchsergebnisse Seite 40.) Die Resultate sind im folgenden summarisch zusammengestellt und mit den Ergebnissen von β -Carotin verglichen. (Zeichenerklärung s. Tab 1.)

	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
β -Carotin					
Zykamenpollen		H***	H***	H***	I
Haselnusspollen		F**	F***	F*	I
Vitamin A-Alkohol					
Zykamenpollen	I	I	F*	I	
Haselnusspollen	F**	I	I	I	
Vitamin A-Aldehyd					
Zykamenpollen	I	I	I	I	
Haselnusspollen	I	I	I	I	

Auf Zykamenpollen übt Vitamin A keine Wirkung aus; der hemmende Einfluss des β -Carotins kann daher nicht auf die Wirkung dieses Spaltproduktes zurückgeführt werden.

Auf die Keimung von Haselnusspollen wirkt Vitamin A-Alkohol in der Konzentration von 10⁻³ Gewichtsteilen fördernd, deckt sich also in qualitativer Hinsicht in seiner Wirkung mit β -Carotin. Vitamin A-Aldehyd dagegen beeinflusst die Pollenkeimung von *Corylus Avellana* nicht.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass wahrscheinlich die Carotinoide den Grundumsatz der Zelle primär nicht beeinflussen.

353 Die Prüfung der Wuchsstoffhypothese

Streckungswachstum pflanzlicher Zellen erfolgt im allgemeinen unter dem Einfluss von Wuchsstoffen. Die Annahme, dass Carotinoide das Streckungswachstum des Pollenschlauches beeinflussen, rückt diese Pigmente in die Nähe der Auxine. Es war daher naheliegend, einmal bekannte pflanzliche Wuchsstoffe auf ihre Wirkung in der Pollenkeimung zu untersuchen.

353.1 Die Wirkung von β -Indolyl-Essigsäure auf die Keimung von Zykamenpollen

Als Repräsentant pflanzlicher Wuchsstoffe wurde β -Indolyl-Essigsäure gewählt. In Paraffin gelöst zeigte dieser Stoff im geprüften Konzentrationsbereich von $3 \cdot 10^{-4}$ bis $3 \cdot 10^{-10}$ Gewichtsteilen keine Wirkung. Wässrige Lösungen der Konzentrationen von 10^{-4} und 10^{-5} setzten die Keimrate etwas herab; die Hemmungen sind statistisch jedoch nur schwach gesichert (vgl. Versuchsergebnisse S. 40).

Die Versuche zeigen, dass die Keimung und das damit korrelierte Schlauchwachstum von Zykamenpollen primär durch Heteroauxin nicht beeinflusst wird; es ist somit nicht ausgeschlossen, dass die Streckung des Pollenschlauches unter dem Einfluss anderer Wirkstoffe als der β -Indolyl-Essigsäure erfolgt.

Die Beobachtung, dass Heteroauxin die Pollenkeimung nicht beeinflusst, steht im Widerspruch zu den Feststellungen früherer Autoren (vgl. z. B. TSUNG-LE LOO, TSUNG-CHEN HWANG 1944).

353.2 Untersuchungen über die gegenseitige Beeinflussung von Carotinoiden und Heteroauxin

Um weitere Argumente für die Wuchsstoffhypothese zu erhalten, wurden Carotinoide und Heteroauxin in ihrem Zusammenwirken auf die Pollenkeimung untersucht. Als Arbeitshypothese diente die Annahme, dass der durch unbefruchtete Samenanlagen ausgeschiedene, wasserlösliche Stoff, welcher Umstände ist, die Hemmwirkung der Antherencarotinoide aufzuheben und in eine Förderwirkung umzuwandeln, ein pflanzlicher Wuchsstoff sein könnte.

Um diese Hypothese zu prüfen, wurde untersucht, wie die Zugabe von Heteroauxin die Hemmwirkung von β -Carotin beeinflusst. Die Versuche wurden nach dem Suspensionsverfahren durchgeführt, indem ich β -Carotin in Paraffin, Heteroauxin in Wasser löste. Die Ergebnisse finden sich auf Seite 41.

Die Versuche bestätigen die Annahme; es ist möglich, durch eine wässrige Heteroauxinlösung von 50 mg/l die Hemmwirkung einer β -Carotinlösung (1:2000 in Paraffin) aufzuheben und in eine Förderwirkung umzuwandeln. Dieses Experiment stellt somit eine Modellreaktion dar, die es erlaubt, die Aufhebung der Hemmwirkung von Antherencarotinoiden durch Samenanlagen an Hand von Umsetzungen zweier kristallisierter Stoffe zu untersuchen.

Wie die Hemmwirkung des β -Carotins lässt sich auch der hemmende Einfluss von Luteochrom durch Heteroauxin aufheben. (Beleg S. 41). Auf die Wirkung des Förderstoffes Crocetin hat dagegen die Zugabe von β -Indolyl-Essigsäure keinen Einfluss. (Versuchsergebnisse S. 42.)

353.3 Ersatz von Heteroauxin im β -Carotintest durch Vitamin E und Vitamin K_1

Die Aufhebung der Hemmwirkung von Carotinoiden durch Heteroauxin erlaubt es, einen qualitativen Wuchsstofftest durchzuführen, indem man prüft,

ob eine bestimmte Substanz instande ist, in dieser Modellreaktion die β -Indolyl-Essigsäure zu ersetzen. Dieses Prüfverfahren wird je nach dem verwendeten Carotinoid als β -Carotintest oder Luteochromtest bezeichnet.

Es ist möglich, im β -Carotintest Heteroauxin durch Vitamin K₁ (Präparat Roche) und Vitamin E (d, l- α -Tocopherol) zu ersetzen. Vitamin K₁ wirkt für sich allein wie die β -Indolyl-Essigsäure indifferent auf die Keimung von Zyklamenpollen; Vitamin E dagegen ist ein starker Hemmstoff, dessen Wirkungsschwelle bei der Konzentration von 10⁻⁶ Gewichtsteilen noch nicht erreicht ist.

Die Resultate der Versuche mit den beiden Vitaminen E und K₁ finden sich auf den Seiten 42—43.

Die Ergebnisse dieser Versuche schliessen die Möglichkeit nicht aus, dass die Carotinoide primär das Streckungswachstum des Pollenschlauches von *Cyclamen persicum* beeinflussen, wobei die Hemmwirkung der Antherencarotinoide durch wasserlösliche Wirkstoffe von Auxincharakter aus dem Stempelgewebe der Samenzpflanze aufgehoben und in eine Förderwirkung umgewandelt werden kann.

Im Rahmen seiner eigenen Untersuchungen hat cand. phil. W. WINTER am Institut für Allgemeine Botanik der Universität Zürich einen Teil der Experimente wiederholt. Bei Versuchen, die nicht wie üblich mit Gemischen von Pollen einer grossen Zahl von Zyklamensorten durchgeführt wurden, zeigte es sich, dass Blütenstaub der Zyklamensorte «Leuchtfleur» (Züchtung Gebr. MOLL) durch β -Carotin in seiner Keimung nicht gehemmt wird. Vielleicht lässt sich diese Eigentümlichkeit damit in Zusammenhang bringen, dass bei der Varietät «Leuchtfleur» partielle Samensterilität auftritt. Inwieweit bei Versuchen mit Carotinoiden mit einer sortenspezifischen Reaktion des Pollens zu rechnen ist, muss durch weitere Experimente abgeklärt werden.

4 Belegmaterial

Das Belegmaterial für diese Arbeit ist in der Reihenfolge der Beweisführung (Kapitel 3) aufgeführt.

Zeichenerklärung:

- n = Anzahl der parallel durchgeführten Einzelversuche
- % = Prozentsatz der gekeimten Pollenkörner, bestimmt als arithmetisches Mittel aus den n Einzelversuchen
- SQ = Summe der Quadrate der Abweichungen (vgl. dazu Abschnitt 231.1)
- E = Einfluss des geprüften Stoffes:
 - I = Indifferenz, F = Förderung, H = Hemmung

- P_{Hom} = Wahrscheinlichkeit dafür, aus einer normal verteilten Grundgesamtheit eine Stichprobengruppe vom Umfang n mit der beobachteten oder einer noch grösseren Streuung rein zufällig herauszugreifen (vgl. Abschnitt 231.1)
- M = Mittlere quadratische Abweichung.
4. = Hinweis darauf, dass die betreffende Konzentration geschätzt und daher nur in bezug auf die Grössenordnung gesichert ist.

Symbole zur Bezeichnung des Grades der statistischen Sicherung:

- ** = statistisch sehr stark gesicherte Wirkung: $P \leq 0,001$
- * = statistisch stark gesicherte Wirkung: $0,001 < P \leq 0,01$
- = statistisch gesicherte Wirkung: $0,01 < P \leq 0,05$
-) = statistisch ungesicherte Wirkung

Die Wirkung von Carotinoiden bekannter Konstitution auf die Keimung von Zyklopenpollen

Lycopin $C_{40}H_{56}$

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 23° , 5^h .

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	5	6,9 %	15,7	—
gesättigte Lösung	ca. 10^{-4} 3	11,1 %	39,4	(F) ¹⁾
erdünnt 1: 10	ca. 10^{-5} 3	12,9 %	5,4	F**
erdünnt 1: 100	ca. 10^{-6} 3	12,2 %	13,4	F* P = 0,02
erdünnt 1: 1000	ca. 10^{-7} 3	9,4 %	51,1	I
erdünnt 1: 10 000	ca. 10^{-8} 3	10,4 %	11,5	I

¹⁾ Die Förderwirkung der gesättigten Lösung lässt sich statistisch nicht sichern, da die Serie eine zu grosse Streuung aufweist ($P_{Hom} = 0,14$).

Crocetin $C_{20}H_{24}O_4$

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 23° , 4^h .

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	6	9,5 %	5,9	—
gesättigte Lösung	ca. 10^{-4} 6	14,8 %	38,9	F**
erdünnt 1: 10	ca. 10^{-5} 3	12,1 %	12,8	(F) P = 0,06
erdünnt 1: 100	ca. 10^{-6} 3	13,7 %	2,0	F***

Bixin $C_{27}H_{30}O_4$

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 21° , 6^h $30'$.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	7	10,3 %	19,0	—
gesättigte Lösung	ca. 10^{-5} 3	15,1 %	2,3	F**
erdünnt 1: 10	ca. 10^{-6} 4	10,3 %	18,0	I
erdünnt 1: 100	ca. 10^{-7} 4	10,8 %	5,0	I
erdünnt 1: 1000	ca. 10^{-8} 4	8,7 %	10,3	I

Capsanthin $C_{40}H_{56}O_2$ Grenzflächenverfahren, Paraffin, 23° , 4^h 30'.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	6	9,3 %	16,7	—
gesättigte Lösung	ca. 10^{-4}	13,6 %	25,0	F**
verdünnt 1 : 10	ca. 10^{-5}	12,1 %	2,0	F* P = 0,05
verdünnt 1 : 100	ca. 10^{-6}	11,3 %	16,2	I
verdünnt 1 : 1000	ca. 10^{-7}	8,3 %	6,0	I
verdünnt 1 : 10 000	ca. 10^{-8}	8,9 %	3,8	I

Xanthophyll $C_{40}H_{56}O_2$ Grenzflächenverfahren, Paraffin, 23° , 5^h .

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	6	9,9 %	55,3	—
gesättigte Lösung	ca. 10^{-4}	11,4 %	3,8	I
verdünnt 1 : 10	ca. 10^{-5}	wegen Inhomogenität ausgeschaltet		
verdünnt 1 : 100	ca. 10^{-6}	8,1 %	6,9	I
verdünnt 1 : 1000	ca. 10^{-7}	10,3 %	22,5	I

Xanthophyllepoxyd $C_{40}H_{56}O_3$ Grenzflächenverfahren, Paraffin, 23° , 4^h .

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	6	6,1 %	59,5	—
$1 \cdot 10^{-2}$	4	14,6 %	35,8	F**
$2 \cdot 10^{-4}$	4	3,9 %	2,5	I
$2 \cdot 10^{-5}$	4	7,0 %	4,0	I

Xanthophyll-dipalmitat $C_{72}H_{116}O_4$ Grenzflächenverfahren, Paraffin, 23° , 4^h 30'.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	4	14,9 %	7,6	—
10^{-3}	4	18,8 %	3,9	F**
10^{-4}	4	13,8 %	4,5	I
10^{-5}	4	14,8 %	3,6	I
10^{-6}	4	14,8 %	11,6	I
10^{-7}	4	13,5 %	9,2	I

Kryptoxanthin $C_{40}H_{56}O$ Grenzflächenverfahren, Paraffin, $22,5^\circ$, 4^h .

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	6	8,3 %	7,7	—
gesättigte Lösung	ca. 10^{-4}	11,3 %	22,1	F* P = 0,04
verdünnt 1 : 10	ca. 10^{-5}	9,7 %	6,0	I
verdünnt 1 : 100	ca. 10^{-6}	11,3 %	14,6	(I) P = 0,05
verdünnt 1 : 1000	ca. 10^{-7}	9,1 %	0,3	I

Zeaxanthin $C_{40}H_{56}O_2$

Senzflächenverfahren, Paraffin, 23° , 4^h .

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	6	9,9 %	20,5	—
Sättigte Lösung	ca. $2 \cdot 10^{-4}$	6	7,6 %	11,8
Verdünnt 1 : 10	ca. $2 \cdot 10^{-5}$	2	0,5 %	0,1
Verdünnt 1 : 100	ca. $2 \cdot 10^{-6}$	3	8,2 %	14,4
Verdünnt 1 : 1000	ca. $2 \cdot 10^{-7}$	3	7,6 %	0,3
Verdünnt 1 : 10 000	ca. $2 \cdot 10^{-8}$	3	6,6 %	10,3

Anthraxanthin $C_{40}H_{56}O_3$

Senzflächenverfahren, Paraffin, $23,5^{\circ}$, 4^h 30'.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	5	10,1 %	5,4	—
Sättigte Lösung	ca. $2 \cdot 10^{-4}$	6	12,9 %	12,6
Verdünnt 1 : 10	ca. $2 \cdot 10^{-5}$	4	13,3 %	28,9
Verdünnt 1 : 100	ca. $2 \cdot 10^{-6}$	4	10,3 %	9,2
Verdünnt 1 : 1000	ca. $2 \cdot 10^{-7}$	4	10,4 %	13,4

Physalien $C_{72}H_{116}O_4$ (Zeaxanthin-dipalmitat)

Senzflächenverfahren, Paraffin, 23° , 4^h .

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	6	5,9 %	18,2	—
3	3	10,6 %	6,7	F**
4	2	7,8 %	0,5	I
5	2	6,7 %	0,0	I
6	3	5,8 %	2,3	I
7	3	6,0 %	11,6	I

Neochscholtzanthin $C_{40}H_{54}O_2$

Senzflächenverfahren, Paraffin, $23,5^{\circ}$, 4^h 30'.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	7	13,6 %	12,7	—
3	4	20,3 %	8,2	F***
4	2	14,3 %	8,0	I
5	4	13,8 %	2,1	I
6	3	13,7 %	1,6	I

Hydro- β -carotin $C_{40}H_{58}$

Senzflächenverfahren, Paraffin, 24° , 4^h 30'.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	5	13,4 %	55,8	—
3	3	13,9 %	53,1	I ¹⁾
4	1	14,7 %	0,0	I ²⁾
5	2	11,5 %	2,1	I
6	3	17,1 %	6,9	I
7	2	14,2 %	4,1	I
8	3	11,3 %	4,0	I

¹⁾ Einzelwerte 8,7 %, 14,0 % und 19,0 %; eine stimulierende Wirkung bei dieser Konzentration lässt sich vermuten.

²⁾ Einzelwerte 14,7 % und 20,0 %; der zweite Wert wurde wegen Inhomogenität ausgeschaltet. Eine stimulierende Wirkung ist nicht ausgeschlossen.

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 23°, 5h.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	10	12,7 %	123,4	—
5.10 ⁻³	3	28,1 %	8,3	F***
1.10 ⁻³	2	20,4 %	37,9	F* P = 0,04
2.10 ⁻⁴	3	19,3 %	84,2	F* P = 0,05

γ-Carotin C₄₀H₅₆

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 23,5°, 4h 30'.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	7	17,4 %	81,9	—
10 ⁻⁴	4	17,8 %	4,8	I
10 ⁻⁵	4	18,1 %	38,2	I
10 ⁻⁶	3	18,1 %	2,7	I
10 ⁻⁷	4	15,3 %	7,4	I

ε₁-Carotin C₄₀H₅₆

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 24°, 5h.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	8	18,9 %	43,3	—
10 ⁻³	4	18,7 %	14,5	I
10 ⁻⁴	3	15,1 %	2,7	H* P = 0,05 ¹⁾
10 ⁻⁵	4	18,5 %	60,1	I
10 ⁻⁶	infolge Inhomogenität ausgeschaltet			
10 ⁻⁷	4	17,9 %	12,1	I
10 ⁻⁸	4	17,9 %	30,1	I

¹⁾ Diese Hemmung ist mit einer Wahrscheinlichkeit von $P = 0,05$ nur knapp gesichert. Da nicht einzusehen ist, wie zwischen zwei indifferent wirkenden Stufen einer Konzentrationsreihe gesetzmässig eine Hemmwirkung auftreten sollte, wird dieser Hemmung keine Bedeutung zugemessen.

Aurochrom C₃₀H₅₆O₂

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 24°, 5h 30'.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	7	17,6 %	21,4	—
gesättigte Lösung	ca. 10 ⁻⁵	17,1 %	32,3	I
verdünnt 1 : 10	ca. 10 ⁻⁶	18,0 %	7,5	I
verdünnt 1 : 100	ca. 10 ⁻⁷	17,7 %	44,9	I
verdünnt 1 : 1000	ca. 10 ⁻⁸	19,6 %	15,6	I

Mutatochrom C₄₀H₅₆O

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 23,5°, 5h.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	8	18,9 %	9,1	—
10 ⁻⁴	3	11,6 %	7,4	H***
10 ⁻⁵	4	8,0 %	69,8	H**** ¹⁾
10 ⁻⁶	4	18,4 %	22,7	I
10 ⁻⁷	3	18,7 %	0,7	I

¹⁾ $P_{Hom} = 0,03$; Einzelwerte 12,3 %, 11,7 %, 5,7 % und 2,3 %.

Leucochrom $C_{10}H_{56}O_2$

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 23° , 4^h .

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	5	8,2 %	6,4	—
10^{-3}	6	3,4 %	7,9	H***
10^{-4}	3	4,6 %	9,8	H* P = 0,04
10^{-5}	3	3,9 %	1,4	H**
10^{-6}	3	7,9 %	6,8	I
10^{-7}	3	6,7 %	0,7	I

Flavoxanthin $C_{10}H_{56}O_3$

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 24° , 4^h 30'.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	8	10,7 %	48,3	—
gesättigte Lösung ca. 10^{-4}	4	6,9 %	4,7	H* P = 0,03
Verdünnt 1: 10 ca. 10^{-5}	3	4,8 %	1,4	H**
Verdünnt 1: 100 ca. 10^{-6}	4	11,2 %	6,3	I
Verdünnt 1: 1000 ca. 10^{-7}	3	9,7 %	1,5	I

Chrysanthemaxanthin $C_{10}H_{56}O_3$

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 23° , 4^h 30'.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	6	12,2 %	9,0	—
gesättigte Lösung ca. 10^{-4}	5	8,5 %	7,3	H**
Verdünnt 1: 10 ca. 10^{-5}	3	8,2 %	39,4	(H) ¹⁾
Verdünnt 1: 100 ca. 10^{-6}	3	13,0 %	6,2	I
Verdünnt 1: 1000 ca. 10^{-7}	3	8,8 %	8,2	H* P = 0,03 ²⁾
Verdünnt 1: 10 000 ca. 10^{-8}	3	12,7 %	24,9	I

¹⁾ Einzelwerte 12,0¹⁾, 9,3²⁾, 3,3³⁾. Infolge der grossen Streuung lässt sich die Hemmung statistisch nicht sichern.

²⁾ Die tiefe Keimrate ist vermutlich durch einen Versuchsfehler bedingt.

-Carotin $C_{40}H_{56}$

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 24° , 4^h 30'.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	8	20,2 %	9,7	—
10^{-4}	4	13,2 %	8,3	H***
10^{-5}	4	13,2 %	23,2	H***
10^{-6}	4	17,9 %	33,2	I
10^{-7}	4	18,2 %	6,3	H* P = 0,05 ¹⁾

¹⁾ Der statistisch nur knapp gesicherten Hemmung (P = 0,05) wird aus Kontinuitätsgründen keine Bedeutung zugemessen.

-Carotin $C_{40}H_{56}$

Grenzflächenverfahren, Paraffin, $23,5^\circ$, 5^h .

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	8	19,7 %	17,9	—
10^{-4}	3	11,2 %	1,1	H***
10^{-5}	4	14,3 %	1,7	H***
10^{-6}	4	13,8 %	3,9	H***
10^{-7}	4	20,8 %	10,3	I

β -Carotin-monoepoxyd $C_{40}H_{50}O$ Grenzflächenverfahren, Paraffin, 23°, 4^h.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	8	17,1 %	102,6	—
10 ⁻⁴	4	2,0 %	0,2	H***
10 ⁻⁵	4	15,0 %	59,3	I
10 ⁻⁶	4	16,0 %	61,6	I
10 ⁻⁷	4	14,8 %	17,0	I

Nach vier Stunden waren die stark verdünnten Lösungen (10⁻⁵ bis 10⁻⁷) weitgehend entfärbt und damit inaktiviert, so dass es nicht möglich ist, die Wirkungsschwelle eindeutig festzulegen.

 β -Carotin-diepoxyd $C_{40}H_{36}O_2$ Grenzflächenverfahren, Paraffin, 23,5°, 5^h.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	8	19,6 %	48,1	—
10 ⁻³	4	11,0 %	16,2	H***
10 ⁻⁴	4	12,3 %	18,0	H***
10 ⁻⁵	4	10,4 %	5,2	H***
10 ⁻⁶	4	17,5 %	16,1	(H) ¹⁾

¹⁾ Die Hemmung lässt sich statistisch nicht mehr erfassen, da die Streuung der beiden Serien zu gross ist.

Decapreno- β -carotin $C_{50}H_{68}$ Grenzflächenverfahren, Paraffin, 23,5°, 5^h.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	5	19,5 %	11,7	—
3.10 ⁻³	3	12,4 %	2,3	H**
3.10 ⁻⁴	3	12,4 %	8,1	H**
3.10 ⁻⁵	2	10,8 %	1,4	H**
3.10 ⁻⁶	2	15,7 %	32,0	(H) ¹⁾
3.10 ⁻⁷	1	20,0 %	0,0	I
3.10 ⁻⁸	4	19,5 %	17,4	I

¹⁾ Die Hemmung lässt sich infolge der grossen Streuung ($P_{Hom} = 0,13$) statistisch nicht mehr sichern.

Die Wirkung von Carotinoiden unbekannter Konstitution aus Zykamenantheren auf die Keimung von Zykamenpollen

Fraktion AGrenzflächenverfahren, Paraffin, 24°, 4^h 30'.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	8	18,0 %	24,1	—
Stammlösung ca. 10 ⁻³	4	9,3 %	2,7	H***
verdünnt 1 : 10 ca. 10 ⁻⁴	4	11,6 %	0,8	H***
verdünnt 1 : 100 ca. 10 ⁻⁵	4	16,5 %	81,4	(H) ¹⁾
verdünnt 1 : 1 000 ca. 10 ⁻⁶	4	13,1 %	19,2	H**
verdünnt 1 : 10 000 ca. 10 ⁻⁷	4	15,9 %	5,6	I

¹⁾ Die vier Einzelwerte streuen zu stark ($P_{Hom} = 0,13$), so dass sich die Hemmung statistisch nicht sichern lässt.

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 24,5°, 4^h 30'.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	8	23,5 %	14,7	—
Stammlösung ca. 10 ⁻⁶	8	12,6 %	8,8	H***
verdünn 1 : 10 ca. 10 ⁻⁷	4	21,3 %	2,0	H* P = 0,04 ²⁾
verdünn 1 : 100 ca. 10 ⁻⁸	4	21,2 %	2,0	H* P = 0,04 ²⁾

²⁾ Infolge der ausserordentlich grossen Homogenität der beiden Serien ist die Hemmung statistisch noch knapp gesichert; doch wird dieser Hemmung im Vergleich mit derjenigen bei 10⁻⁶ keine Bedeutung zuerkannt.

Fraktion B

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 25°, 4^h.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	7	13,1 %	19,3	—
Stammlösung ca. 10 ⁻³	3	7,2 %	3,9	H***
verdünn 1 : 10 ca. 10 ⁻⁴	4	8,8 %	4,5	H**
verdünn 1 : 100 ca. 10 ⁻⁵	4	7,8 %	2,3	H***
verdünn 1 : 1000 ca. 10 ⁻⁶	4	13,1 %	9,0	I

Korrelation zwischen Keimrate und Pollenschlauchwachstum bei *Cyclamen persicum*

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 23°, 7^h.

Carotinoid	%	P _{Hom}	1 ± δM
β-Carotin 1 : 1000	9,3 %	0,30	5,0 ± 0,6
	10,3 %	0,80	4,8 ± 0,8
	11,3 %	0,28	4,3 ± 0,5
	12,0 %	0,99	4,4 ± 0,6
	12,0 %	0,74	5,2 ± 0,6
	12,0 %	0,88	5,3 ± 0,6
	12,7 %	0,96	4,2 ± 0,4
ohne Carotinoid	16,7 %	0,91	5,0 ± 0,6
	16,7 %	0,99	5,1 ± 0,5
	17,3 %	0,99	3,9 ± 0,4
	17,7 %	0,91	6,4 ± 0,8
	18,3 %	0,88	6,4 ± 0,7
	19,0 %	0,83	4,3 ± 0,6
	19,7 %	0,99	8,3 ± 0,9
	23,0 %	0,98	5,4 ± 0,6
Proocetin ca. 1 : 10 ⁵	24,0 %	0,95	9,0 ± 0,8
	24,7 %	0,89	7,7 ± 0,9
	24,7 %	0,99	9,1 ± 0,7
	25,7 %	0,90	7,8 ± 0,8
	25,7 %	0,97	7,8 ± 0,9
	27,0 %	0,98	9,5 ± 0,8
	28,7 %	0,95	9,2 ± 0,9

**Aufhebung der Hemmwirkung von Carotinoiden aus Zykamenantheren durch
unbefruchtete Samenanlagen von *Cyclamen persicum***

Hemmung durch Fraktion A

Suspensionsverfahren, 24°, 4h.

Serie	n	%	SQ	Vergleiche mit Kontrolle		
				I	II	III
Kontrollserie I	10	25,6 %	19,0			
Kontrollserie II	3	25,9 %	6,8	I		
Kontrollserie III	11	17,8 %	56,8	H***	H***	
Versuchsserie	11	23,3 %	29,5	H**	H*	F***
Kontrollserie I: Keimfähigkeitskontrolle. Pollen in einer Suspension Paraffin/Wasser.						
Kontrollserie II: Kontrolle der Samenanlagen. Unbefruchtete Samenanlagen von <i>Cyclamen persicum</i> der Suspension von Kontrollserie I zugefügt.						
Kontrollserie III: Kontrolle der Hemmwirkung durch Fraktion A. Carotinoid in der Konzentration von ca. $5 \cdot 10^{-6}$ in Paraffin gelöst und mit diesem in Wasser suspendiert.						
Versuchsserie: Aufhebung der Hemmwirkung durch Samenanlagen. Unbefruchtete Samenanlagen der Lösung von Kontrollserie III beigelegt.						

Hemmung durch Fraktion B

Suspensionsverfahren, 24°, 2h 30'.

Serie	n	%	SQ	Vergleiche mit Kontrolle		
				I	II	III
Kontrollserie I	7	22,2 %	19,4			
Kontrollserie II	9	23,0 %	25,4	I		
Kontrollserie III	9	17,9 %	25,1	H***	H***	
Versuchsserie	8	25,1 %	9,5	F**	F*	F***
Kontrollserie I: Keimfähigkeitskontrolle; Suspension Paraffin/Wasser.						
Kontrollserie II: Kontrolle der Samenanlagen. Unbefruchtete Samenanlagen von <i>Cyclamen persicum</i> der Suspension von Kontrolle I zugefügt.						
Kontrollserie III: Kontrolle der Hemmwirkung durch Fraktion B, Konzentration ca. 10^{-3} , in Paraffin gelöst. Paraffin in Wasser suspendiert.						
Versuchsserie: Aufhebung der Hemmwirkung durch Samenanlagen, die der Lösung von Kontrollserie III beigelegt werden.						

**Aufhebung der Hemmwirkung von β -Carotin durch unbefruchtete Samenanlagen von
*Cyclamen persicum***

Suspensionsverfahren, 25°, 2h 30'.

Serie	n	%	SQ	Vergleiche mit Kontrolle		
				I	II	III
Kontrollserie I	6	22,6 %	9,2			
Kontrollserie II	9	23,4 %	15,5	I		
Kontrollserie III	9	10,7 %	41,3	H***	H***	
Versuchsserie	8	27,5 %	94,0	F**	F**	F***
Kontrollserie I: Keimfähigkeitskontrolle; Suspension Paraffin/Wasser.						
Kontrollserie II: Kontrolle der Samenanlagen. Unbefruchtete Samenanlagen von <i>Cyclamen persicum</i> der Suspension von Kontrollserie I zugefügt.						

Kontrollserie III: Kontrolle der Hemmwirkung einer Lösung von β -Carotin (Konzentration 10^{-4}). β -Carotin in Paraffin gelöst und mit diesem in Wasser suspendiert.

Versuchsserie: Aufhebung der Hemmwirkung durch unbefruchtete Samenanlagen, die der Lösung der Kontrollserie III zugefügt worden sind.

Die Wirkung von Carotinoiden bekannter Konstitution auf die Keimung von Haselnusspollen

β -Carotin $C_{40}H_{56}$

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 23° , 4^h $30'$.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	8	25,6 %	43,7	—
10^{-3}	4	32,1 %	21,7	F**
10^{-4}	4	37,6 %	37,5	F***
10^{-5}	4	31,4 %	56,3	F*P = 0,011
10^{-6}	4	26,8 %	6,7	I
10^{-7}	4	26,3 %	59,3	I

β -Carotin-monoepoxyd $C_{40}H_{56}O$

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 23° , 3^h $45'$.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	8	18,6 %	36,4	—
10^{-3}	3	22,6 %	0,4	F*P = 0,02
10^{-4}	4	24,4 %	8,8	F**
10^{-5}	4	19,8 %	33,0	(F) ¹⁾
10^{-6}	4	24,5 %	4,1	F***

¹⁾ Infolge der grossen Streuung ($PHom = 0,58$) lässt sich die geringe Förderung statistisch nicht sichern.

Procetin $C_{20}H_{21}O_4$

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 23° , 4^h $15'$.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	6	24,5 %	9,1	—
gesättigte Lösung	ca. $5 \cdot 10^{-5}$	16,1 %	183,1	H*P = 0,04
verdünnt 1: 10	ca. $5 \cdot 10^{-6}$	23,1 %	70,8	I
verdünnt 1: 100	ca. $5 \cdot 10^{-7}$	24,7 %	24,2	I
verdünnt 1: 1000	ca. $5 \cdot 10^{-8}$	20,9 %	109,3	I

Die Wirkung von Vitamin A auf die Keimung von Zyklopenpollen

Vitamin A-Alkohol

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 23° , 4^h $20'$.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	8	19,4 %	8,5	—
10^{-3}	4	19,2 %	17,2	I
10^{-4}	4	20,5 %	5,0	I
10^{-5}	4	21,3 %	6,2	F*P = 0,04 ¹⁾
10^{-6}	4	20,3 %	10,0	I

Der knapp gesicherten Förderung bei der Konzentration von 10^{-5} wird aus Gründen der Kontinuität keine Bedeutung zugemessen.

Vitamin A-Aldehyd

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 23°, 4^h 15'.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	8	16,5 %	13,3	—
10 ⁻³	4	15,4 %	10,8	I
10 ⁻⁴	4	16,6 %	3,0	I
10 ⁻⁵	4	17,1 %	9,0	I
10 ⁻⁶	4	17,2 %	0,3	I

Die Wirkung von Vitamin A auf die Keimung von Haselnusspollen

Vitamin A-Alkohol

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 23°, 4^h 30'.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	7	20,7 %	53,8	—
10 ⁻³	4	27,6 %	61,4	F**
10 ⁻⁴	4	20,9 %	1,2	I
10 ⁻⁵	4	22,1 %	28,1	I
10 ⁻⁶	4	21,8 %	4,6	I

Vitamin A-Aldehyd

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 23°, 4^h 30'.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	8	22,9 %	130,9	—
10 ⁻³	4	23,1 %	12,3	I
10 ⁻⁴	4	23,9 %	8,5	I
10 ⁻⁵	4	26,7 %	8,2	I
10 ⁻⁶	4	24,0 %	15,2	I

Die Wirkung von β -Indolyl-Essigsäure auf die Keimung von Zykamenpollen

β -Indolyl-Essigsäure (Heteroauxin)

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 25,5°, 4^h.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	8	18,8 %	50,6	—
3.10 ⁻⁴	4	19,8 %	6,8	I
3.10 ⁻⁵	wegen Inhomogenität ausgeschaltet			
3.10 ⁻⁶	4	16,6 %	99,4	I
3.10 ⁻⁷	4	18,8 %	30,6	I
3.10 ⁻⁸	4	20,6 %	12,1	I
3.10 ⁻⁹	4	18,0 %	62,4	I
3.10 ⁻¹⁰	4	19,7 %	18,0	I

Keimung im hangenden Tropfen, wässrige Lösungen, 25°, 2^h.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	9	19,7 %	27,6	—
10 ⁻⁴	3	16,9 %	0,5	H* P = 0,04
10 ⁻⁵	3	16,4 %	3,2	H* P = 0,03
10 ⁻⁶	2	17,7 %	0,9	I
10 ⁻⁷	2	20,2 %	9,3	I
10 ⁻⁸	2	17,5 %	0,5	I

Aufhebung der Hemmwirkung von β -Carotin durch β -Indolyl-Essigsäure

Versuch 1

Suspensionsverfahren, 25°, 2^h 30'.

Serie	n	%	SQ	Vergleiche mit Kontrolle		
				I	II	III
Kontrollserie I	9	23,2%	13,4			
Kontrollserie II	9	22,6 %	11,0	I		
Kontrollserie III	9	16,9 %	50,3	H***	H***	
Versuchsserie	9	26,9 %	5,1	F***	F***	F***

Versuch 2

Suspensionsverfahren, 25°, 2^h 30'.

Serie	n	%	SQ	Vergleiche mit Kontrolle		
				I	II	III
Kontrollserie I	9	21,6 %	22,2			
Kontrollserie II	8	23,4 %	7,7	F*		
Kontrollserie III	8	13,3 %	27,3	H***	H***	
Versuchsserie	9	26,7 %	25,7	F***	F***	F***

Kontrollserie I: Keimfähigkeitskontrolle. Suspension Paraffin/Wasser.

Kontrollserie II: Kontrolle der Heteroauxinwirkung. β -Indolyl-Essigsäure in der Konzentration von 50 mg/l in Wasser gelöst.

Kontrollserie III: Kontrolle der Hemmwirkung von β -Carotin. β -Carotin in der Konzentration von 1:2000 in Paraffin gelöst und mit diesem in Wasser suspendiert.

Versuchsserie: Lösungen der Kontrollserien II und III im Verhältnis 1:1 gemischt, um die Aufhebung der Hemmwirkung von β -Carotin durch β -Indolyl-Essigsäure zu untersuchen.

Die Aufhebung der Hemmwirkung von Luteochrom durch β -Indolyl-Essigsäure

Suspensionsmethode, 25°, 2^h 30'.

Serie	n	%	SQ	Vergleiche mit Kontrolle		
				I	II	III
Kontrollserie I	9	21,3 %	58,4			
Kontrollserie II	9	24,3 %	83,4	I		
Kontrollserie III	8	13,8 %	180,7 ¹⁾	H**		
Versuchsserie	8	21,3 %	72,2	I	I	F**

¹⁾ Ausnahmsweise wurde die Serie nicht ausgeschaltet, obwohl P_{Hom} etwas kleiner als 0,05 ist.

Kontrollserie I: Keimfähigkeitskontrolle. Suspension Paraffin/Wasser.

Kontrollserie II: Kontrolle der β -Indolyl-Essigsäure; wässrige Lösung von 50 mg/l.

Kontrollserie III: Kontrolle von Luteochrom. Luteochrom in der Konzentration von ca. 10^{-5} in Paraffin gelöst und mit diesem in Wasser suspendiert.

Versuchsserie: Suspensionen der Kontrollserien II und III im Verhältnis 1:1 gemischt, um festzustellen, ob durch Heteroauxin die Hemmwirkung des Luteochroms aufgehoben werden kann.

Zusammenwirken von Crocetin und β -Indolyl-Essigsäure

Suspensionsmethode, 25°, 2^h 30'.

Serie	n	%	SQ	Vergleiche mit Kontrolle		
				I	II	III
Kontrollserie I	9	21,1 %	85,2			
Kontrollserie II	9	20,4 %	75,5	I		
Kontrollserie III	9	25,7 %	35,7	F**		
Versuchsserie	9	24,9 %	134,6	F*(1)		F*(2)

¹⁾ $P = 0,05$

²⁾ $P = 0,02$

Kontrollserie I: Keimfähigkeitskontrolle. Suspension Paraffin/Wasser.

Kontrollserie II: Kontrolle des Heteroauxins; wässrige Lösung von mg/l.

Kontrollserie III: Kontrolle des Crocetins. Crocetin in der Konzentration von ca. 10^{-5} in Paraffin gelöst und mit diesem in Wasser suspendiert.

Versuchsserie: Suspensionen der Kontrollserien II und III im Verhältnis 1:1 gemischt, um den gegenseitigen Einfluss von Crocetin und β -Indolyl-Essigsäure zu bestimmen.

Die Aufhebung der Hemmwirkung von β -Carotin durch Vitamin K₁ (Ro 1—6722)

Versuch 1

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 25°, 4^h.

Serie	n	%	SQ	Vergleiche mit Kontrolle		
				I	II	III
Kontrollserie I	8	12,3 %	56,8			
Kontrollserie II	6	10,9 %	41,9	I		
Kontrollserie III	7	5,7 %	7,3	H***		
Versuchsserie	8	15,2 %	37,4	F*(1)	F**	F***

¹⁾ Der Wert von P beträgt 0,02.

Versuch 2

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 23,5° 5^h.

Serie	n	%	SQ	Vergleiche mit Kontrolle		
				I	II	III
Kontrollserie I	8	14,0 %	1,3			
Kontrollserie II	8	14,0 %	3,8	I		
Kontrollserie III	7	7,2 %	11,4	H***		
Versuchsserie	8	19,0 %	84,0	F**	F**	F***

Kontrollserie I: Keimfähigkeitskontrolle auf Paraffin.

Kontrollserie II: Kontrolle von Vitamin K₁. Lösung in Paraffin 1:200.

Kontrollserie III: Kontrolle von β -Carotin. Lösung in Paraffin 1:2000.

Versuchsserie: Lösungen der Kontrollserien II und III im Verhältnis 1:1 gemischt.

Aufhebung der Hemmwirkung von β -Carotin durch d,l- α -Tocopherol

Versuch 1

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 24°, 4^h 30'.

Serie	n	%	SQ	Vergleiche mit Kontrolle		
				I	II	III
Kontrollserie I	6	18,4 %	24,6			
Kontrollserie II	8	5,4 %	30,6	H***		
Kontrollserie III	8	5,5 %	14,0	H***		
Versuchsserie	8	12,8 %	29,9	H***	F***	F***

Versuch 2

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 24°, 4^h 30'.

Serie	n	%	SQ	Vergleiche mit Kontrolle		
				I	II	III
Kontrollserie I	7	16,6 %	21,0			
Kontrollserie II	8	7,2 %	32,4	H***		
Kontrollserie III	8	4,4 %	22,9	H***		
Versuchsserie	7	10,6 %	29,8	H***	F* ¹⁾	F***

¹⁾ Der Wert für die Wahrscheinlichkeit P liegt mit 0,012 nur knapp ausserhalb der Sicherheitsschwelle von 0,01.

Kontrollserie I: Keimfähigkeitskontrolle auf Paraffin.

Kontrollserie II: Kontrolle von d,l- α -Tocopherol. Lösung in Paraffin 1:2000 (Versuch 1) bzw. 1:4000 (Versuch 2).

Kontrollserie III: Kontrolle von β -Carotin. Lösung in Paraffin 1:2000.

Versuchsserie: Lösungen der Kontrollserien II und III im Verhältnis 1:1 gemischt.

Die Wirkung von d,l- α -Tocopherol auf die Keimung von Zykamenpollen

Grenzflächenverfahren, Paraffin, 23°, 5^h.

Konzentration	n	%	SQ	E
Kontrolle	8	17,1 %	31,7	—
)-2	4	10,1 %	3,9	H***
)-3	4	12,7 %	6,0	H**
)-4	4	7,5 %	14,5	H***
)-5	4	14,2 %	11,9	H * P = 0,05
)-6	4	11,4 %	1,4	H***

5 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit ist es, zu untersuchen, ob Carotinoide als Wirkstoffe in fortpflanzungsphysiologischen Prozessen bei Phanerogamen eingreifen.

Es werden Methoden beschrieben, die es erlauben, fettlösliche Stoffe von relativ hoher Thermostabilität (Schwelle bei ca. 70° C) in ihrer Wirkung auf Keimung und Schlauchwachstum von Pollen verschiedener Pflanzenarten zu untersuchen. Eine erste Methode, das Grenzflächen-

verfahren, wird mit Vorteil angewendet, um Verdünnungsreihen eines bestimmten lipophilen Stoffes durchzutesten; eine zweite Technik, das Suspensionsverfahren, wurde entwickelt, um wasser- und fettlösliche Substanzen in ihrem Zusammenwirken auf die Pollenkeimung prüfen zu können.

Bestimmung der Keimrate und der mittleren Schlauchlänge erfolgen nach standardisierten Verfahren, um eine rationelle statistische Bearbeitung der Versuchsergebnisse zu ermöglichen.

25 Carotinoide bekannter chemischer Konstitution wurden auf ihre Wirkung auf die Pollenkeimung von *Cyclamen persicum* untersucht (vgl. Tab. 1, S. 16). Nach ihrer Wirkung und dem Schwellenwert der wirksamen Konzentration lassen sich diese Stoffe in sechs Gruppen einteilen; als Extreme erscheinen die Gruppe der extremen Förderstoffe, die in Verdünnungen von 10^{-6} Gewichtsteilen die Keimrate noch erhöhen, und die Klasse der extremen Hemmstoffe, die bei der gleichen Verdünnung ihre Wirkungsschwelle aufweisen.

Offenkettige Carotinoide, wie Lycopin, Crocetin und Bixin, wirken als starke oder extreme Förderstoffe auf die Keimung von Zyklopenpollen. Pigmente, die der Gruppe der extremen Hemmstoffe angehören, lehnen sich in ihrem chemischen Bau eng an das β -Carotin an. Die Hemmwirkung des β -Carotins lässt sich durch Vitamin A-Alkohol und Vitamin A-Aldehyd nicht ersetzen.

Drei Carotinoide aus den Antheren und aus dem Blütenstaub von *Cyclamen persicum* (β -Carotin, Fraktion A und Fraktion B) wirken stark hemmend auf die Keimung von Zyklopenpollen; daraus wird die Hypothese abgeleitet, dass den Antherencarotinoiden die Funktion zufällt, ein vorzeitiges Auskeimen des Pollens in den Staubgefäßen zu verhindern. Wenn diese Annahme richtig ist, so muss das Stempelgewebe der Samenpflanze über ein Prinzip verfügen, das imstande ist, die Hemmwirkung der Antherencarotinoide aufzuheben oder eventuell in eine Förderwirkung umzuwandeln, da auf der Narbe Pollen sofort auszukeimen vermag.

Es ist möglich, durch Zugabe unbefruchteter Samenanlagen von *Cyclamen persicum*, die für sich allein die Keimrate des Versuchspollens nicht beeinflussen, die Hemmwirkung der Antherencarotinoide aufzuheben und in zwei von drei Fällen in eine Förderwirkung umzuwandeln.

Zwischen Keimrate und Schlauchwachstum besteht bei Zyklopenpollen eine positive Korrelation, die statistisch sehr stark gesichert ist.

Von dieser Beobachtung der positiven Korrelation ausgehend, werden zwei Arbeitshypothesen über den Angriffspunkt der Carotinoide in der Zelle aufgestellt. Die Grundumsatzhypothese erklärt die gleichsinnige Wirkung von Carotinoiden auf Keimung und Pollenschlauchwachstum durch eine allgemeine Beeinflussung des Zellstoffwechsels; die Wuchsstoffhypothese nimmt an, dass die Carotinoide primär auf das Streckungswachstum des Pollenschlauches einwirken.

Die Grundumsatzhypothese erscheint aus zwei Gründen als unwahrscheinlich:

a) Es ist anzunehmen, dass sich Änderungen des Grundumsatzes in entsprechenden Schwankungen der Zellatmung auswirken. Wie ein Versuch im Warburgapparat zeigt, scheint es nicht möglich zu sein, die Atmung der Pollenörner während der Quellung und der beginnenden Keimung durch Carotinoide zu beeinflussen.

b) Grundumsatzprozesse verlaufen zell- und nicht artspezifisch; Carotinoide differenzieren aber in ihrer Wirkung auf die Keimung von Pollen verschiedener Pflanzenarten. Drei Carotinoide wurden in ihrer Wirkung auf die Keimung von Zykamen- und Haselnusspollen miteinander verglichen, wobei alle drei Stoffe sowohl in qualitativer wie auch in quantitativer Hinsicht in ihrem Einfluss voneinander abweichen.

Zur Prüfung der Wuchsstoffhypothese wurden die Beziehungen zwischen Carotinoiden und β -Indolyl-Essigsäure als Repräsentant pflanzlicher Wuchsstoffe untersucht. Dabei ergab sich, dass es nicht möglich ist, die Antherencarotinoide in ihrer Wirkung durch Heteroauxin zu ersetzen, ein Hinweis darauf, dass das Streckungswachstum des Pollenschlauches von *Cyclamen persicum* primär nicht durch pflanzliche Wuchsstoffe vom Charakter der β -Indolyl-Essigsäure beeinflusst wird.

Die Hemmwirkung des β -Carotins lässt sich durch Zugabe von β -Indolyl-Essigsäure aufheben und in eine Förderwirkung verwandeln. Diese Modellreaktion erlaubt, anhand der Umsetzungen zweier kristallisierter Stoffe die Vorgänge zu untersuchen, die sich abspielen, wenn durch Beigabe unbefruchteter Samenanlagen der hemmende Einfluss der Antherencarotinoide blockiert und in eine stimulierende Wirkung umgewandelt wird.

Es ist ferner möglich, die Hemmwirkung von Luteochrom auf die Keimung von Zykamenpollen durch β -Indolyl-Essigsäure aufzuheben; auf die Wirkung des Förderstoffes Crocetin hat die Zugabe von Heteroauxin keinen Einfluss.

Heteroauxin lässt sich in seiner Wirkung auf β -Carotin im Modellversuch durch Vitamin K₁ ersetzen, das für sich allein die Keimung von Zykamenpollenstaub nicht beeinflusst.

Eine partielle Aufhebung der Hemmung, die durch β -Carotin auf die Pollenkeimung von *Cyclamen persicum* ausgeübt wird, lässt sich durch Zugabe von Vitamin E (d,l- α -Tocopherol) erreichen, das als Hemmstoff für sich allein noch in Verdünnungen von 10^{-6} Gewichtsteilen die Keimrate von Zykamenpollen reduziert.

Die Versuchsergebnisse lassen vermuten, dass die physiologische Rolle der Antherencarotinoide bei *Cyclamen persicum* darin besteht, ein vorzeitiges Auskeimen des Pollens in den Staubgefäßen zu verhindern. Gelangt der Pollen auf die Narbe, so wird der hemmende Einfluss der Antherencarotinoide auf Pollenkeimung

und Pollenschlauchwachstum durch eine unbekannte Substanz aus der Samenanlage aufgehoben und in eine Förderwirkung umgewandelt. Dieser unbekannte Wirkstoff aus der unbefruchteten Samenanlage lässt sich in Modellversuchen durch β -Indolyl-Essigsäure und Vitamin K₁ ersetzen.

Summary

The object of this paper is to find whether the carotenoids interfere actively with the germination and the tube growth of the pollen of flowering plants.

Methods are described for examining substances, soluble in fat and having a relatively high stability at temperatures up to 70° C, for their effect on the germination and the tube growth of pollen. A first method, called «Grenzflächenverfahren», is used with advantage to test a definite lipophilic substance at different dilutions. A second method, the «Suspensionsverfahren», was developed to examine pairs of substances, one of which is soluble in water and the other in fat, in their mutual effect on the germination of pollen.

Standardised proceedings are used for determining the percentage of germinated pollen grains and the average length of the pollen tube to facilitate the statistical treatment of the experiments.

25 carotenoids with known chemical constitution were examined for their effect on the pollen germination of *Cyclamen persicum* MILL. (see table 1, p. 16). In consequence of their effect and the limit of the effective concentration these substances can be classified in six groups. As extremes there are the group of substances increasing the percentage of germinated pollen grains in dilutions as low as 10⁻⁶ weight fraction, and the group of carotenoids with an inhibiting effect in the same dilutions.

Aliphatic carotenoids with an open chain like lycopene, crocetin and bixin stimulate the pollen germination of *Cyclamen persicum* very greatly. Substances in the group of carotenoids with the highest inhibiting effect have a chemical constitution analogous to that of β -carotene. The inhibiting effect of β -carotene is not shown by vitamin A-alcohol or vitamin A-aldehyd.

Three carotenoids from the anthers and from the pollen of *Cyclamen persicum* (β -carotene, fraction A and fraction B) inhibit strongly the germination of the pollen of *Cyclamen persicum*. From this it may be concluded that the carotenoids of the anthers have the function of preventing a premature germination of the pollen. If this hypothesis is right, the stamen, the style or the ovules of *Cyclamen persicum* have consequently to dispose of a substance which is able to remove the

inhibiting effect of the carotenoids of the anthers or to change it into a stimulant because pollen having in effect reached the stamen germinates easily. It is possible to test this hypothesis. The inhibiting effect of the three carotenoids of the anthers can be removed and in two cases be changed to a stimulating effect by unfertilized ovules of *Cyclamen persicum* (type «Lachsflamme»), which themselves have no influence on the germination of pollen of *Cyclamen persicum*.

A positive correlation is found between the germination and the tube growth of the pollen of *Cyclamen persicum*.

In consequence of this correlation two hypotheses about the attacking point of the carotenoids in the cell have been derived. The first hypothesis explains the parallel effect of the carotenoids on germination and tube growth by a general influence on the metabolism of the cells; the second one assumes that the carotenoids act on the elongation of the pollen tube.

The first hypothesis can be disproved by two observations:

a) As a rule a variation of the metabolism is accompanied by a change in rate of respiration. Experiments have made it probable that the respiration of pollen is not influenced by carotenoids.

b) Metabolic processes occur in the same way in each cell and do not differ from one species to another. Three carotenoids were compared in their effect on the germination of pollen of the two species *Cyclamen persicum* and *Corylus Avellana*. The experiments showed that all three substances act differently both qualitatively and quantitatively.

To examine the second hypothesis, the relation between carotenoids and IAA, selected as a typical growth substance of plants, has been tested. It was not possible to replace the effect of the carotenoids of the anthers by IAA; an indication, that the elongation of the pollen tube is not influenced primarily by a growth substance like IAA.

The inhibiting effect of β -carotene can be removed and changed to one of stimulation by IAA. The reaction of these two substances allows one to study the actions which occur, when by addition of unfertilized ovules the inhibiting effect of the carotenoids of the anthers is transformed to one of stimulation.

Moreover it is possible to reduce the inhibiting effect of luteochrome on the germination of pollen of *Cyclamen persicum* by IAA. An addition of IAA has no influence on the effect on the stimulating carotenoid crocetin.

IAA can be replaced in its effect on β -carotene by vitamine K₁, which itself has no influence on the germination of the pollen of *Cyclamen persicum*.

The inhibiting effect of β -carotene on the pollen of *Cyclamen persicum* can be removed partially by vitamine E (d,l- α -tocopherol). This substance tested alone still reduces the percentage of germinated pollen grains in a dilution of 10^{-6} weight parts.

The experiments show that the function of the carotenoids isolated from the anthers of *Cyclamen persicum* consists in preventing a premature germination of the pollen of this plant. When the pollen has reached the stamen, the inhibiting effect of the carotenoids on the germination and the tube growth of the pollen is removed and transformed to one of stimulation by a unknown substance of the ovules which have not been fertilized. This unknown agent can be replaced in model experiments by IAA and vitamine K₁.

6 Nachwort

Es bleibt mir noch die angenehme Pflicht, allen denen zu danken, die durch ihre Unterstützung zur Förderung dieser Arbeit beigetragen haben.

Die Carotinoidpräparate erhielt ich vom Chemischen Institut der Universität Zürich, wo auch die Isolierung und die Analyse der Antheren- und Pollencarotinoide von *Cyclamen persicum* erfolgte. Ich möchte es nicht unterlassen, dem Leiter dieses Institutes, Herrn Prof. Dr. P. KARRER, für seine grosszügige Unterstützung, für sein Interesse, das er meiner Arbeit entgegenbrachte, sowie für seine mannigfachen Ratschläge und Hinweise herzlich zu danken. Zu besonderem Dank bin ich auch Herrn Prof. Dr. M. VISCONTINI gegenüber verpflichtet, der mir wertvolle Anregungen zu Untersuchungen über den Angriffspunkt der Carotinoide in der Zelle vermittelt hat. Herrn Dr. E. LEUMANN und Herrn C. H. EUGSTER, Assistenten am Chemischen Institut der Universität Zürich, danke ich für ihre Hilfe in technischer Beziehung; Herrn Dr. E. LEUMANN ausserdem für seine Arbeit zur Isolierung und Charakterisierung der Carotinoide aus Zykamenantheren. Die Entwicklung der Suspensionsmethode geht auf eine Anregung von Herrn Dr. E. SCHUMACHER, Assistent am Physikalisch-Chemischen Institut der Universität Zürich, zurück, dem ich hiemit meinen besten Dank aussprechen möchte. Herrn Prof. Dr. A. LINDER, E.T.H. Zürich, danke ich für seine entscheidende Unterstützung bei der Entwicklung der statistischen Methodik. Herrn E. EICHENBERGER, Assistent am Pflanzenphysiologischen Institut der E.T.H. Zürich, verdanke ich die Durchführung von Atmungsmessungen. Versuchspflanzen wurden mir von der Gärtnerei Gebr. MOLL in Zollikon und von der Eidg. Versuchsanstalt für Obst- und Weinbau in Wädenswil zur Verfügung gestellt; von der Firma F. HOFFMANN-LA ROCHE in Basel erhielt ich Präparate von Vitamin A-Alkohol, Vitamin A-Aldehyd, Vitamin E und Vitamin K₁; allen drei Stellen spreche ich meinen Dank aus.

Literaturverzeichnis

In Zeitschriften erschienene Publikationen werden ohne Titel aufgeführt.

BÜNNING, E., 1937a: *Planta* 26, 719.

— 1937b: *Planta* 27, 148.

— 1937c: *Planta* 27, 583.

EMERSON, S. H., 1940: *Botanical Gazette* 101, 890.

FODOR, A. und SCHOENFELD, R., 1931: *Biochemische Zeitschrift* 233, 243.

JOST, L., 1905: *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 23, 504.

KARRER, P. und JUCKER, E., 1948: «Carotinoide». Verlag Birkhäuser, Basel.

KARRER, P., JUCKER, E., RUTSCHMANN, J. und STEINLIN, K., 1945: *Helvetica chimica acta*. 28, 1149.

- KARRER, P. und LEUMANN, E., 1951: *Helvetica chimica acta* 34, 1412.
- KOEGL, F. und SCHURINGA, G. J., 1944: *Zeitschrift für physiologische Chemie* 280, 148.
- KUHN, R., MOEWUS, F. und JERCHEL, D., 1938: *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft* 71, 1541.
- LEWIS, D., 1944: *Nature* 153, 575.
- LINDER, A., 1951: «Statistische Methoden für Naturwissenschaftler, Mediziner und Ingenieure.» Verlag Birkhäuser, Basel. 2. Aufl.
- MOEWUS, F., 1950: *Biologisches Zentralblatt*, Band 69, Heft 5/6, 181.
- STRASBURGER, E., 1878: «Befruchtung und Zellteilung».
- STRAUB, J., 1946: *Zeitschrift für Naturforschung* 1, 287.
- 1947: *Zeitschrift für Naturforschung* 2B, 433.
- 1948: *Naturwissenschaften* 30, 439.
- TSUNG-LE-LOO und TSUNG-CHEN, HWANG, 1944: *American Journal of Botany* 31, 356.
- WARBURG, O. und NEGELEIN, E., 1923: *Naturwissenschaften* 10, 647.
- WILLSTÄTTER, R. und STOLL, A., 1918: «Untersuchungen über die Assimilation der Kohlen-säure.» Berlin.

Lebenslauf

Am 21. Oktober 1925 wurde ich, FRIEDRICH HANS SCHWARZENBACH, von Rüschlikon, Kanton Zürich, in Wädenswil geboren. Nach dem Besuch der Primar- und Sekundarschule in der Wohngemeinde trat ich im Frühjahr 1941 in die kantonalzürcherische Lehrerbildungsanstalt ein. Während vier Jahren besuchte ich das Unterseminar in Küsnacht und absolvierte anschliessend den Jahreskurs des Oberseminars in Zürich. Im Frühling 1946 schloss ich mit dem Fähigkeitsausweis für Primarlehrer ab. Vom Sommersemester 1946 bis zum Wintersemester 1951/52 war ich an der Philosophischen Fakultät II der Universität Zürich immatrikuliert, wobei ich mich während der Sommersemester 1947 und 1949 wegen Militärdienstes beurlauben liess.

Die Dissertation entstand auf Anregung von Herrn Prof. Dr. P. KARRER und Herrn Prof. Dr. H. WANNER im Institut für Allgemeine Botanik der Universität Zürich unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. H. WANNER.

In den Sommern 1948 bis 1951 nahm ich an den Dänischen Expeditionen unter Dr. LAUGE KOCH nach Ostgrönland teil, wobei ich mich in erster Linie mit ökologischen und pflanzengeographischen Untersuchungen der ostgrönländischen Gebirgsvegetation befasste.

Während meines Studiums habe ich Vorlesungen und Übungen folgender Dozenten besucht (in alphabetischer Reihenfolge aufgeführt): Prof. E. ABDERHALDEN, P.-D. Prof. F. ALMASY, Prof. H. BOESCH, Prof. K. CLUSIUS, Prof. A. J. DÄNIKER, Prof. J. EGGERT, E.T.H., P.-D. Prof. MARTHE ERNST-SCHWARZENBACH, Kantonsschulprofessor K. ESCHER, Prof. A. FREY-WYSSLING E.T.H., Prof. E. FUETER, Prof. E. HADORN, Prof. P. KARRER, Prof. A. LINDER E.T.H., Prof. J. LEUTHARDT, Prof. E. MEYER, Kantonsschulprofessor Th. REBER, P.-D. A. RUTISHAUSER, P.-D. Prof. H. SCHAEPPPI, Prof. O. SCHLAGINHAUFEN, P.D. J. SCHLITTLER, Prof. E. SCHMID, Prof. G. SCHWARZENBACH, Prof. H. STEINER, Prof. T. TROLL, Prof. M. VISCONTINI, P.D. P. VONWILLER, Prof. H. WANNER, P.-D. Prof. CLARA ZOLLIKOFE, Prof. M. ZOLLINGER.

